A. PAILLOT

# L'INFECTION

## CHEZ les INSECTES

A. PAILLOT

DOCTEUR ÈS-SCIENCES, LAURÉAT DE L'INSTITUT
DIRECTEUR DE LA STATION DE ZOOLOGIE AGRICOLE DU SUD-EST

# L'INFECTION CHEZ LES INSECTES

## IMMUNITÉ ET SYMBIOSE

AVEC 279 FIGURES DANS LE TEXTE



IMPRIMERIE DE TRÉVOUX
G. PATISSIER

1933

## Ouvrages du même Auteur :

1928 — *Les Maladies du Ver à Soie. Grasserie et Dysenteries.* 32 planches hors-texte en photogravure, 324 pages. Librairie Desvignes, Passage de l'Hôtel-Dieu, Lyon.

1930 — *Traité des Maladies du Ver à Soie.* 288 pages, avec 99 figures dans le texte. G. Doin et Cie, éditeurs à Paris.

1931 — *Les Insectes nuisibles des Vergers et de la Vigne*, avec 242 figures dans le texte. G. Doin et Cie, éditeurs à Paris.

# INTRODUCTION

En 1912, quand mon Maître, M. le Professeur P. Marchal, me demanda d'étudier les maladies des Insectes, j'avais comme but principal l'utilisation des parasites microbiens dans la lutte contre les Insectes nuisibles. Déjà en 1874, Pasteur, frappé par l'énorme puissance de multiplication des microorganismes, préconisait l'emploi des Champignons dans la lutte contre le Phylloxéra, considérant le parasitisme comme un des moyens les plus sûrs pour enrayer l'extension de ce dangereux parasite. Quelques mois plus tard, l'Académie des Sciences, par la voix de son Secrétaire perpétuel Dumas, insistait à nouveau sur l'intérêt qu'il y aurait à multiplier artificiellement les germes de Champignons parasites du Phylloxéra. Les espérances de Pasteur ne se sont pas réalisées et l'emploi des microorganismes comme auxiliaires dans la lutte contre les Insectes nuisibles n'a pas donné jusqu'ici de résultats très encourageants. Et cependant, à la suite des révélations de la bactériologie, on avait cru qu'il était possible de créer à volonté des épidémies artificielles parmi les Insectes, étant donnée la prodigieuse puissance de multiplication des organismes inférieurs ; l'insuccès a été la règle et la méthode a été discréditée et généralement abandonnée. Or que savons-nous exactement de la pathologie infectieuse des Invertébrés ? Bien peu de chose en comparaison de nos connaissances sur la pathologie infectieuse de l'Homme. On a donc voulu se servir prématurément d'une arme que l'on ne connaissait pas. Le nombre des travaux consacrés à l'étude des maladies infectieuses des Insectes est en effet des plus réduits ; à vrai dire, la question n'a été qu'effleurée et par un petit nombre d'auteurs dont la plupart n'était nullement préparés à ce genre de recherches. Qui oserait affirmer cependant que la question ne fût pas digne de retenir l'attention des biologistes ?

Certes, l'étude de la pathologie humaine ou vétérinaire apparaît d'un intérêt plus immédiat et qui dépasse de beaucoup celui de la pathologie des animaux inférieurs ; mais croit-on qu'une étude approfondie des processus pathologiques dans la série animale n'aurait pas d'importantes répercussions en médecine ? Dans son discours inaugural du premier Congrès international de Pathologie comparée, ROGER affirmait déjà que « pour édifier une véritable pathologie générale, il faut envisager les troubles morbides dans toute la série des êtres vivants en commençant par les inférieurs, Protozoaires et Protophytes, pour s'élever progressivement jusqu'aux Mammifères et à l'Homme ». C'est dans cet esprit que j'ai poursuivi mes recherches sur la pathologie infectieuse des Insectes. Le but utilitaire primitif a été subordonné à la mise au point de cette importante question.

Mes recherches ont été commencées en 1912 à l'Institut Pasteur ; interrompues par la guerre, elles ont été reprises en 1916 à l'Institut bactériologique de Lyon puis à la Station de Zoologie agricole de Saint-Genis-Laval dont la création remonte à l'année 1917. M. le Professeur POLICARD a bien voulu mettre un laboratoire à ma disposition dans les nouveaux locaux de la Faculté de Médecine de Lyon. Mes recherches ont ainsi bénéficié d'une ambiance des plus favorables à la poursuite du but que je m'étais fixé. Je suis heureux de pouvoir lui témoigner à nouveau toute ma gratitude.

Bien que les résultats obtenus jusqu'à ce jour soient encore très incomplets, je crois cependant le moment venu de faire un exposé d'ensemble de nos connaissances actuelles sur l'infection chez les Insectes. On verra, d'après les faits nouveaux mis en évidence, combien sont passionnantes de telles recherches et quelles magnifiques perspectives elles ouvrent sur l'avenir d'une science encore trop mal connue et trop longtemps dédaignée par la médecine. Est-il besoin de rappeler que c'est en étudiant les Invertébrés que METCHNIKOFF a mis en lumière les processus de la phagocytose dont le rôle s'est révélé si important en pathologie ? N'est-ce pas également l'étude d'une maladie des Invertébrés, la Pébrine du Ver à soie, qui a mis PASTEUR sur la voie de ses immortelles découvertes en pathologie humaine ?

L'étude de l'immunité, ou immunologie, constitue un chapitre important de la pathologie infectieuse ; mes recherches propres chez les Insectes ont abouti à des résultats qui permettent de conclure à l'existence de processus différents de ceux qui ont été mis en évidence chez



les Vertébrés supérieurs. Il n'apparaît pas toutefois que les découvertes faites dans cette voie et qui remontent à près de dix ans, aient soulevé de vives critiques et suscité de nouvelles recherches. Les curieux phénomènes d'immunité humorale observés dans le sang de diverses chenilles à la suite d'injection de Coccobacilles entomophytes ne paraissent pas avoir été observés par d'autres observateurs et n'ont même pas donné lieu à des controverses. Et cependant, j'ai la conviction que l'importance des phénomènes nouveaux que j'ai longuement décrits dépasse de beaucoup le cadre de mes modestes recherches. Cette conviction est motivée par les nouvelles découvertes effectuées récemment chez les Pucerons, découvertes qui tendent à modifier complètement notre conception actuelle du phénomène de la symbiose. Celle-ci ne devrait plus être considérée, chez les Pucerons tout au moins, comme une association étroite de deux êtres vivants retirant chacun un égal bénéfice de la vie en commun, mais comme une infection bactérienne normale, équilibrée par des réactions d'immunité semblables à celles qui se produisent dans l'organisme des Insectes inoculés avec Bacilles peu pathogènes. La défense de cette thèse constitue l'un des buts principaux que je poursuis en écrivant cet ouvrage. Je ne me dissimule pas les difficultés d'une pareille tâche ; mais les arguments sur lesquels je m'appuie sont si nombreux et si démonstratifs que j'espère bien faire partager ma conviction par ceux qui me liront.

Je désire également convaincre mes lecteurs de l'importance considérable des études de pathologie comparée poursuivies méthodiquement dans la série animale. Dans un article publié en 1924 par la Revue Générale des Sciences, j'avais attiré l'attention sur l'importance de la science qui se propose l'étude comparée des processus de défense de l'être vivant contre les infections microbiennes ; j'ai montré que cette science, à laquelle j'ai donné le nom d'immunologie comparée, possède ses méthodes propres, ses problèmes spéciaux qui touchent directement ou indirectement à l'économie humaine. La Société de Biologie de Paris, à l'occasion de la célébration de son 75[e] anniversaire, consacra l'importance du problème de l'immunité chez les Invertébrés en chargeant l'un de ses membres les plus éminents, le Professeur CANTACUZÈNE de la Faculté de Médecine de Bukarest, de faire un rapport sur cette question. Comme le dit très justement le rapporteur, elle a ainsi voulu « surtout marquer par là l'intérêt qu'il y aurait à donner, dans l'avenir, une importance plus

grande à l'étude d'un chapitre de l'immunité dont les conséquences doctrinales peuvent être considérables ».

L'ouvrage comprend sept parties : les quatre premières sont consacrées à l'étude des maladies à Protozoaires, des mycoses, des maladies à ultravirus et des maladies bactériennes ; l'étude de l'immunité antibactérienne constitue la cinquième partie ; la sixième partie est consacrée à l'étude de la symbiose chez les Aphides ; elle a été limitée à ce groupe, car c'est le seul sur lequel aient porté mes recherches ; les conclusions de celles-ci ne peuvent évidemment pas être généralisées à l'ensemble des Insectes, mais elles peuvent ouvrir des perspectives nouvelles sur la conception générale de la symbiose. Les conséquences économiques de l'étude de la pathologie infectieuse chez les Insectes font l'objet de la dernière partie ; un chapitre a été consacré à l'utilisation en Agriculture des parasites microbiens et un autre à l'étude du rôle des Insectes dans la transmission de certaines maladies de l'Homme, des animaux domestiques ou des plantes. En écrivant ce dernier chapitre, je n'ai nullement l'intention de traiter à fond cette importante question ; je veux simplement attirer l'attention sur l'importance du rôle joué par les Insectes comme vecteur ou comme hôtes de passage obligatoires dans le cycle évolutif de certains parasites.

Je ne me dissimule pas l'imperfection de l'ouvrage que je livre au public. Mais, comme je le disais déjà en 1922, c'est une introduction à une œuvre de plus grande envergure ; c'est un point de départ plutôt qu'une mise au point définitive. De longues recherches seront encore nécessaires pour combler toutes ses lacunes. S'il m'est permis d'exprimer un vœu, c'est que ceux qui me liront comprennent bien l'intérêt considérable qui s'attache à la connaissance exacte des phénomènes pathologiques chez les êtres dits inférieurs et que le nombre des travaux consacrés à cette étude devienne de plus en plus grand.

---

## PREMIÈRE PARTIE

# LES MALADIES A PROTOZOAIRES

Les Protozoaires comprennent les animaux inférieurs dont le corps est constitué par une seule cellule ou par des colonies de cellules toutes semblables. C'est donc une seule cellule qui remplit ici les différentes fonctions dévolues, chez les animaux plus évolués, à des organes plus ou moins hautement différenciés.

Les Protozoaires parasites des Insectes appartiennent aux groupes les plus divers, mais plus spécialement à celui des Sporozoaires qui, comme son nom l'indique, est caractérisé par l'existence de formes de résistance ou spores dont le rôle principal est d'assurer la multiplication des espèces dans le temps et dans l'espace. Le groupe des Flagellés est également bien représenté ; celui des Rhizopodes comprend les Amibes dont le rôle, dans la pathologie de l'Insecte, est des plus restreints.

CHAPITRE PREMIER

# Les Infections à Sporozoaires.

## Article I

## LES MICROSPORIDIOSES

Les Microsporidies jouent un rôle important dans la pathologie infectieuse des Insectes ; elles sont relativement très répandues et peuvent être la cause de mortalité assez élevée. La plus connue est incontestablement la pébrine du Ver à soie qui menaça très gravement l'avenir de la sériciculture au début de la première moitié du siècle dernier.

Les Microsporidies sont caractérisées par leur cycle évolutif qui comprend : un stade amibien végétatif ou stade de schyzogonie, le plus souvent intracellulaire ; un stade de repos ou spore, et un stade intermédiaire ou sporoblastique.

### SYSTÉMATIQUE

La classification des Microsporidies est basée sur la forme des spores et sur le nombre de celles qui se forment dans le sporoblaste, c'est-à-dire dans l'élément qui apparaît à la fin de la vie végétative. On distingue ainsi la famille des Nosématidae dont les spores sont ovales ; celle des Cocconemidae à spores sphériques ou subsphériques, celle des Mrazekidae à spores tubuleuses et la famille des Télomyxidae caractérisée par des spores à deux capsules polaires.

La famille des Nosematidae, la plus importante de toutes au point de vue qui nous occupe et la seule dont il sera question ici, comprend

les genres **Nosema** caractérisé par la formation d'une seule spore par sporoblaste ; **Perezia**, à 2 spores par sporoblaste ; **Gurleya**, tétrasporé ; **Thelohania**, octosporé ; **Stempellia**, dont l'évolution est caractérisée par la formation d'un pansporoblaste à 1, 2, 4 ou 8 sporoblastes donnant naissance à 1, 2, 4 ou 8 spores ; enfin **Duboscquia** dont le pansporoblaste comprend 16 sporoblastes donnant chacun naissance à 1 spore.

## GENERALITÉS SUR LE CYCLE ÉVOLUTIF DES NOSEMATIDÆ

Lorsque la spore pénètre dans l'organisme d'un Insecte susceptible d'être parasité par l'espèce à laquelle elle appartient (la pénétration a lieu le plus souvent par le tube digestif), elle donne naissance à un élément amibien ou schyzonte qui pénètre à l'intérieur de certaines cellules et s'y multiplie activement. Quand les conditions de vie deviennent défavorables à l'intérieur de la cellule, par suite de la trop grande abondance des parasites, la vie végétative, caractérisée par la multiplication schyzogonique des éléments parasitaires, prend fin ; un nouveau stade commence dont le but est la formation d'éléments groupés ou non : les sporoblastes évoluant finalement en formes de résistance ou spores caractérisées par la présence d'une membrane très épaissie à l'abri de laquelle le germe reste à l'état de vie latente jusqu'à ce que les conditions redeviennent favorables à son développement. Les spores sont libérées de l'organisme et répandues dans le milieu extérieur à la suite de la mort de l'Insecte parasité ou même pendant la vie, avec les excréments. Elles peuvent alors infecter de nouveaux Insectes. Ainsi est assurée la propagation naturelle de la maladie parmi les individus d'une même génération. Très souvent, les éléments parasitaires peuvent infecter les œufs qui poursuivent néanmoins leur évolution ; ils déterminent ainsi l'infection des individus de la génération suivante. La transmission héréditaire des maladies à Microsporidies joue un rôle considérable dans l'extension du parasitisme microsporidien.

## ETUDE CYTOLOGIQUE DES DIFFÉRENTS STADES ÉVOLUTIFS DES MICROSPORIDIES

Je prendrai comme types de développement les Microsporidies parasites de **Pieris brassicæ** dont j'ai plus spécialement étudié l'évolution au cours de ces dernières années.



**Stades de schyzogonie.** L'élément le plus simple est représenté par une cellule amibienne de forme arrondie avec un noyau central formé de chromatine plus ou moins condensée. Les éléments à un seul noyau sont

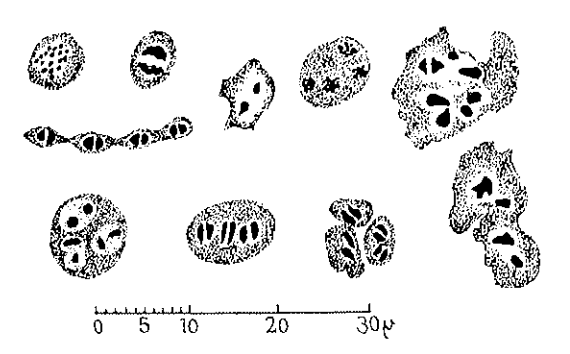



Fig. 1. — Stades de schyzogonie de **Perezia legeri**. Frottis coloré au Giemsa.

rares ; le plus souvent, les cellules sont pourvues de deux noyaux disposés en grains de café ; pareille disposition se retrouve dans les stades végétatifs du Nosema parasite du Ver à soie. Dans certains éléments,

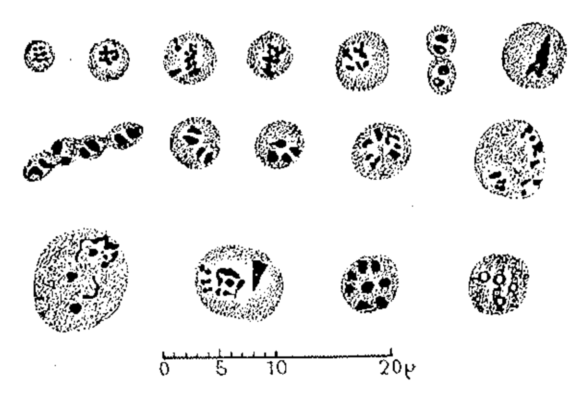



Fig. 2. — Stades de schyzogonie de **P. mesnili**. Frottis coloré au Giemsa.

l'arrangement de la chromatine est tel qu'on pourrait croire à l'existence d'une mitose véritable ; des figures de mitose typique ont été observées par Ch. Perez dans les schyzontes de **Thelohania mænadis**, parasite de **Carcinus maenas** ; mais dans la majorité des espèces de Microspori-

dies connues, on a affaire à de fausses mitoses. La multiplication a lieu dans une seule direction ou dans plusieurs directions à la fois ; dans le premier cas, il y a formation de chaînettes d'éléments ; dans l'autre, il y a formation de plasmodes plurinucléés. En général, on n'observe guère que des chaînettes à deux éléments et des plasmodes à 4 noyaux. Sur frottis coloré au Giemsa, les schyzontes se distinguent nettement des autres stades par leur affinité pour le bleu ; le double-noyau se détache nettement dans la partie centrale plus faiblement colorée que la zone périphérique. L'évolution schyzogonique de certaines espèces est caractérisée par la présence d'éléments plurinucléés plus ou moins allongées et de forme cylindrique (**Thelohania varians,** Léger, parasite des larves de **Simulium, Th. opacita,** Kudo et **Stempellia magna,** Kudo parasites de larves de Culex divers).

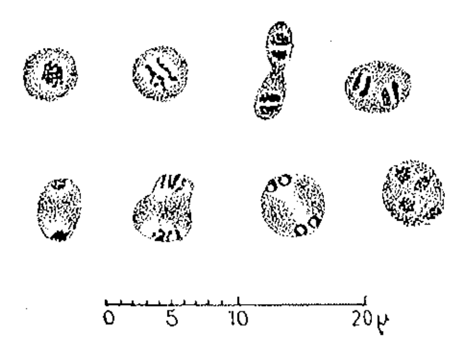


Fig. 3. — Stades de schyzogonie de **P. pieris.** Frottis coloré au Giemsa.

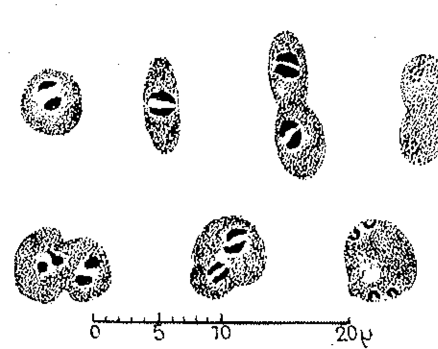


Fig. 4. — Stades de schyzogonie de **Thelohania mesnili.** Frottis de tissu adipeux coloré au Giemsa.

**Stades de sporogonie.** Les auteurs sont loin d'être d'accord sur les processus qui aboutissent à la spore : existe-t-il des phénomènes de conjugaison au cours de l'évolution sporoblastique ? La copulation a-t-elle lieu au début du processus ou à la fin ? S'agit-il d'isogamie ou d'hétérogamie ? Autant de questions très importantes auxquelles il est difficile de donner une réponse en raison de l'impossibité de suivre **in vitro** l'évolution des Microsporidies.

La découverte par CAULLERY et MESNIL de processus sexuels dans le développement des Actinomyxidies a été le point de départ de travaux importants chez les Microsporidies. STEMPELL, dans un important travail sur **Nosema anomalum,** Moniez, publié en 1904, admettait l'existence d'individus sexués à la fin de la sporulation ; la spore ne serait donc pour lui qu'un kyste à deux gamètes ; après réduction nucléaire et formation du noyau de la capsule polaire, il y aurait autofécondation. Cinq ans plus tard, le même auteur étudiant le cycle évolutif de **Nosema bombycis,** Näg., a décrit des processus analogues et aboutit aux mêmes conclusions sur la nature des phénomènes intimes de la sporulation.



Des phénomènes sexuels isogamiques ont été observés par MERCIER dans le développement de **Thelohania giardi,** Henn., parasite des muscles d'un Crustacé, **Crangon vulgaris.**

Les travaux très importants de DEBAISIEUX et de GUYENOT et NAVILLE ont apporté une contribution nouvelle à la connaissance des phénomènes intimes de la sporogonie. D'après DEBAISIEUX, la fin de la vie végétative serait marquée par l'apparition d'éléments à deux noyaux accolés auxquels l'auteur donne le nom de « diplocaryon autogamique »; ces diplocarya constitueraient le point de départ de la reproduction sexuée ; la zygote ou copula formée par fusion des deux noyaux serait un véritable sporonte. Les phénomènes qui viennent d'être décrits ont été observées par DEBAISIEUX dans le développement de **Th. varians,** Léger, **Glugea danilewskyi,** L. Pfr., parasite des muscles de Batraciens divers et reptiles, **Glugea mülleri,** L. Pfr., parasite des muscles de **Gammarus pulex** et **locusta.** En étudiant une de ces espèces, **Gl. danilewskyi,** GUYENOT et NAVILLE ont décrit d'autres phénomènes et soutiennent une thèse différente de celle défendue par DEBAISIEUX ; ainsi, les amibes binucléées du cycle schyzogonique ne représenteraient nullement des copulae autogamiques, mais marqueraient le début d'une nouvelle division asexuée. Des processus de fécondation hétérogamiques auraient été observés par GUYENOT et NAVILLE qui auraient noté, dans certaines préparations, la présence de petits corps falciformes considérés par eux comme de véritables microgamètes nés d'une amibe plurinucléée. Dans les mêmes préparations, ils auraient observé des amas de corps plus volumineux, à protoplasme plus colorable, à noyau plus volumineux : ces corps représenteraient les macrogamètes se rattachant directement à des amibes plurinucléées. Malheureusement il n'a pas été observé de figure indiscutable de copulation, de sorte que ces phénomènes de fécondation hétérogamique restent hypothétiques.

Des figures pouvant être interprétées comme des stades de copulation ont été observées par KUDO dans le développement de **Thelohania magna.**

Dans le cas des Microsporidies de la Piéride du chou que j'ai étudiées sous les noms de **Perezia mesnili, P. legeri** et **P. pieris**, la fin du cycle schyzogonique est marquée par l'apparition d'éléments plus allongés que les schyzontes, à protoplasme plus clair, moins fortement coloré en bleu par le Giemsa et nettement vacuolaire (Fig. 5) ; on observe des éléments à un seul noyau formé de grains de chromatine bien séparés les uns des autres. S'agit-il de zygotes ? Rien jusqu'ici ne

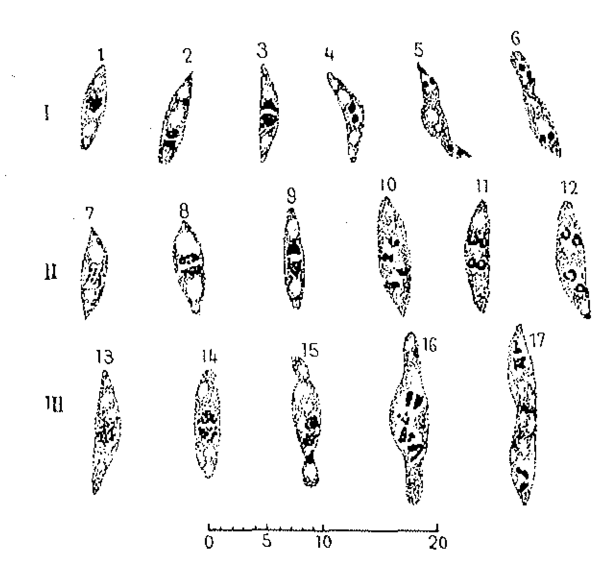


**Fig. 5.** — Stades de sporogonie. I : **P. legeri** ; II : **P. mesnili** ; III : **P. pieris.**

permet de l'affirmer. Le noyau unique se divise par amitose et chacun des noyaux émigre vers les extrémités de l'élément fusiforme ; après une nouvelle division, il se forme deux double-noyaux dont la chromatine affecte souvent la forme de couronne (Fig. 5, **11, 12**). Les éléments à deux double-noyaux représentent, à mon avis, de véritables pansporoblastes. En général, les deux éléments de chaque pansporoblaste se séparent avant de donner naissance à la spore. Quelques-uns cependant échappent à la règle et sont l'origine de double-spores analogues à celles de **Perezia lankesteriæ**, Léger et Dub., parasite de Grégarine. L'existence de pansporoblastes à deux éléments permet de ranger les trois espèces de Microsporidies monosporées dans le genre **Perezia.** D'autres espèces, également monosporées et rangées actuellement dans le genre **Nosema** présentent d'ailleurs des caractères analogues : c'est ainsi qu'on observe la présence de pansporoblastes à deux éléments binucléés au cours de l'évolution du **Nosema bombycis** ; dès l'année 1924, A. Foa avait attiré l'attention sur ce fait et Kudo lui-même, dont les observations confirment cependant celles de Stempell, paraît bien avoir figuré un pansporoblaste à deux double-noyaux dans la planche I



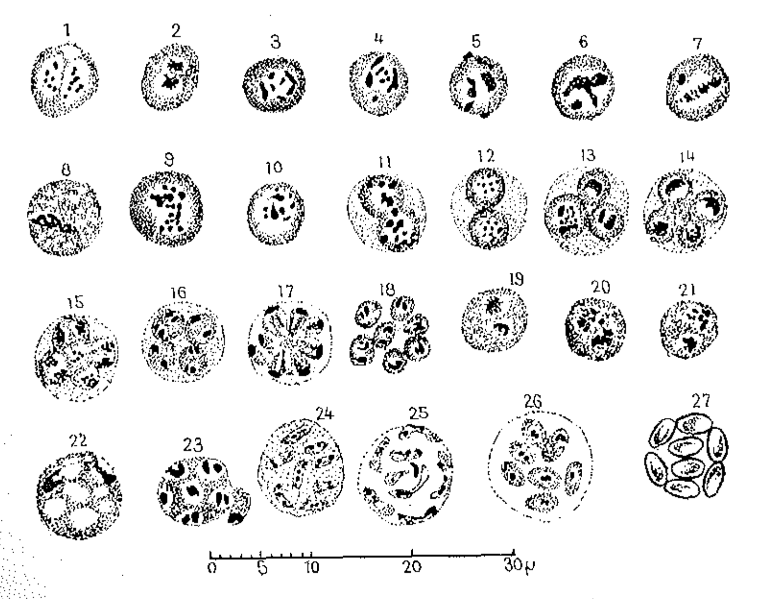


**Fig. 6.** — Stades de sporogonie de **Th. mesnili.**

de son mémoire sur les Microsporidies (Fig. 26), mais il le considère comme un schyzonte en voie de multiplication. Ces quelques considérations montrent combien il est difficile actuellement de donner une bonne classification des Microsporidies.

Les stades de sporogonie de **Thelohania mesnili**, Pail., sont très différents de ceux des **Perezia** et **Nosema** ; ils rappellent, par leurs caractères morphologiques, ceux des espèces voisines, en particulier ceux de **Th. giardi** étudié par Henneguy en 1892, puis par Mercier ; **Th. varians,** étudié par Debaisieux. J'ai représenté dans la figure 6 les principaux stades de sporogonie observés sur frottis de tissu adipeux infecté après coloration au Giemsa. Les éléments figurés en 1 et 2 correspon-

dent au « diplocaryon autogamique » de DEBAISIEUX. Les éléments à un seul noyau, à chromatine formée de grains ou filaments bien isolés les uns des autres (3-8), représenteraient les copulae. On observe des éléments tels que ceux figurés en 5, 6 et 7 dans lesquels l'expulsion de chromatine est nettement caractérisée. La division sporoblastique

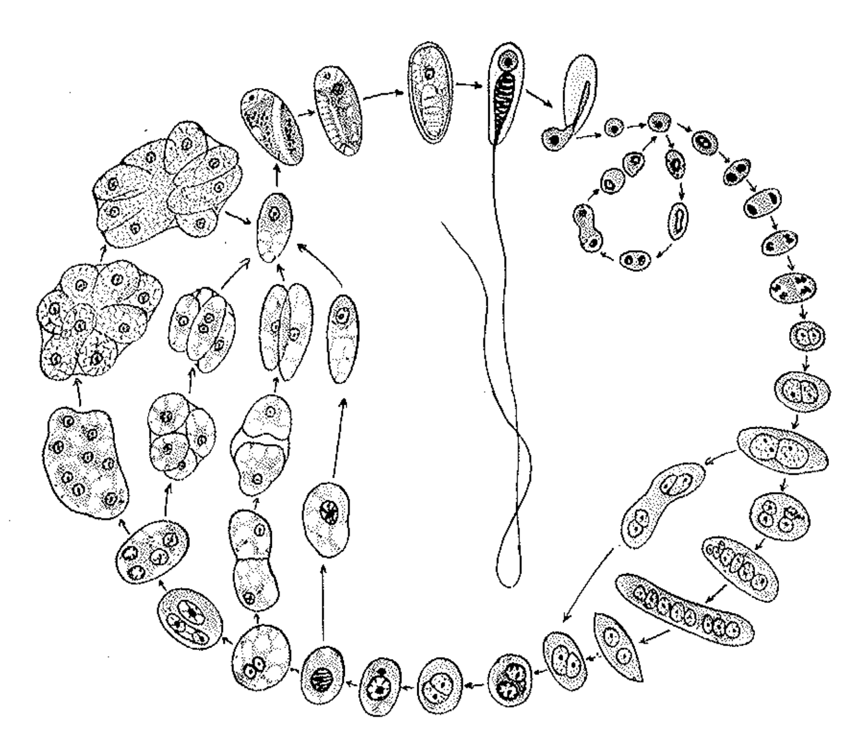


Fig. 7. — Cycle évolutif de Stempellia magna (d'après Kudo).

aboutit à la formation de cellules séparées (11-18) ou de plasmodes dans lesquels l'arrangement de la substance cytoplasmique est tel que les différentes cellules formées sont déjà en partie individualisées (19-24). Les petites cellules arrondies qui se forment dans le premier cas sont généralement pourvues de deux noyaux (18) ou plutôt d'un double-noyau ; la forme et la structure de ce double-noyau peuvent d'ailleurs varier dans de grandes limites ; mais il est difficile d'établir une relation entre les différents types de structure qu'on peut observer sur



un même frottis et d'en tirer des conclusions précises sur les processus d'évolution du parasite. Il est possible aussi que les variations observées ne soient que la conséquence de la plasticité de la cellule parasitaire.

Que la division cytoplasmique suive immédiatement la division nucléaire ou qu'elle soit retardée, la multiplication sporoblastique aboutit toujours à la formation de huit éléments binucléés dont chacun donne naissance à une spore également binucléée. Je n'ai pu mettre en évidence les processus divers qui caractérisent la maturation de la spore.

**Structure de la spore.** On admet que la spore des Microsporidies est formée des parties suivantes : une enveloppe épaisse percée à l'un des pôles (pôle antérieur) d'une ouverture micropylaire ; un germe sporal ou sporoplasme à un ou plusieurs noyaux ; une vacuole ou capsule polaire occupant une partie plus ou moins importante de la spore ; un filament polaire enroulé en spirale dans l'intérieur de la capsule. Cependant, les auteurs sont loin d'être d'accord sur l'importance relative de ces différents constituants et sur leur structure propre.

STEMPELL, par exemple, admet que le germe sporal est pourvu de deux noyaux chez **Glugea anomala** et **Nosema bombycis**, mais qu'il existe en outre deux autres noyaux appartenant à la capsule polaire ; le filament polaire est enroulé en spirale dans la vacuole centrale autour de laquelle le germe sporal est disposé à la manière d'un manchon de faible épaisseur.

SCHUBERT, OHMORI nient l'existence des noyaux de la capsule ; ce serait pour eux de simples grains métachromatiques. LÉGER et HESSE admettent que la capsule polaire coiffe en général le germe binucléé qui se trouve situé dans le fond de la spore ; le filament polaire enroulé dans la capsule, occupe une position antérieure par rapport au germe. Pour KUDO, la spore des Microsporidies n'est pas bâtie sur un plan uniforme : il existerait au moins deux types de structure : l'un représenté par la spore de **Nosema bombycis** et schématisé par STEMPELL ; l'autre, par celle de **Thelohania magna** dont la structure serait la suivante : sporoplasme à deux noyaux, l'un plus grand que l'autre ; un ou deux caryosomes ; grande capsule polaire coiffée par le germe sporal ; filament polaire attaché près du micropyle et enroulé sur les bords internes de la capsule. GUYENOT et NAVILLE étudiant **Gl. danilewskyi** donnent de la structure de la spore une description qui n'est pas conforme à celle des autres auteurs : le sporoplasme, d'abord uninucléé, puis binucléé,

occupe le fond de la spore ; la capsule polaire, en forme de poire, s'ouvre à l'autre extrémité ; elle est coiffée par le germe ; dans sa partie basale, le filament polaire qui s'enroule en spirale à l'intérieur serait attaché au fond de la capsule et baignerait dans un liquide qui remplit la capsule.

Mes recherches propres sur la structure des spores des **Perezia** parasites de **Pieris brassicae** ont abouti à des résultats différents encore de ceux qui viennent d'être exposés. J'ai pu réussir à obtenir une excellente coloration des spores de **P. mesnili** en voie de maturation ; j'ai représenté dans la figure 8 la structure des jeunes spores telle qu'elle se présentait sur frottis coloré au Giemsa. On constate d'abord l'absence

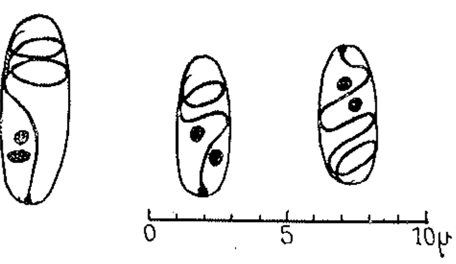



**Fig. 8.** — Spores de **Perezia mesnili** en voie de maturation. Coloration au Giemsa.

de capsule polaire ; le germe sporal remplit toute la spore dont l'enveloppe n'apparaît d'ailleurs pas encore épaissie ; par la suite, il est vraisemblable que l'intérieur du sporoplasme se vacuolise et que les dimensions du germe se réduisent considérablement ; le filament polaire, nettement coloré en pourpre, est attaché au pôle antérieur ; il présente un léger épaississement à sa base ; les deux noyaux du sporoplasme sont formés de chromatine condensée sans structure apparente ; ils occupent une position antérieure. Dans un certain nombre de spores, les noyaux sont placés du même côté du filament ; dans quelques autres, ils sont séparés l'un de l'autre par le filament. Celui-ci forme plusieurs tours de spire dans la partie postérieure de la spore. Avant l'apparition du filament, on remarque la présence, à côté des noyaux, d'un petit grain chromatophile qui paraît émigrer ensuite vers la partie antérieure de la spore où il constitue vraisemblablement la base du filament polaire.

La structure de la spore de **P. legeri** diffère sensiblement de celle de **P. mesnili** ; contrairement à ce qu'on observe dans cette dernière



espèce, il existe une vacuole antérieure arrondie nettement visible à l'état frais ; cette vacuole est traversée par la base rectiligne du filament polaire qui paraît s'enrouler dans le fond de la spore ainsi qu'on peut l'observer après coloration vitale prolongée au bleu de méthylène. Les deux noyaux du germe sporal sont en général situés dans la région postérieure de la spore. La longueur du filament polaire atteint 40 à 50 μ.

Dans un certain nombre de spores de **P. pieris** dont la structure générale se rapproche beaucoup de celle de **P. mesnili**, j'ai constaté l'existence d'un seul noyau formé de quelques grains de chromatine bien séparés les uns des autres ; dans l'une de ces spores (Fig. 9, 15), les grains sont disposés en deux groupes inégaux ; dans l'autre (16), ils apparaissent disposés en quinquonce. Dans les spores mûres, on rencontre toujours deux noyaux à chromatine fortement condensée et sans structure apparente ; parfois, ils sont en forme de croissant. Comme les spores de **Gl. danilewskyi**, celles de **P. pieris** seraient donc uninucléées d'abord, puis binucléées ; des grains vraisemblablement métachromatiques sont parfois visibles dans la vacuole antérieure.

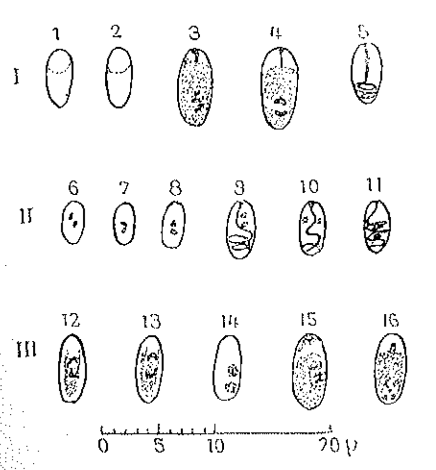



**Fig. 9.** — Spores de **P. legeri** (I), **P. mesnili** (II), **P. pieris** (III). Coloration au Giemsa.

Il semble donc que la structure des spores de Microsporidies est beaucoup plus variable qu'on ne l'admettait jusqu'ici: il n'existerait pas, comme le pensent LÉGER et HESSE et KUDO, un seul ou deux types de structure, mais un nombre indéterminé de types. Lorsque de nouvelles techniques plus perfectionnées que les techniques actuelles de coloration nous permettront de mettre facilement en évidence les divers éléments constitutifs de la spore, les différentes espèces de Microsporidies seront beaucoup mieux caractérisées qu'elles ne le sont maintenant ; il est incontestable en effet que la spore représente l'élément le plus constant du cycle évolutif du cycle des Microsporidies.

## ANATOMIE PATHOLOGIQUE DES MICROSPORIDIOSES

Les Microsporidies sont des parasites essentiellement endocellulaires. Certaines espèces, **Nosema bombycis** par exemple, peuvent se développer indifféremment dans la plupart des cellules de l'organisme du Ver à soie ; d'autres au contraire ne se rencontrent que dans certains tissus bien définis.

**Perezia mesnili** et **P. pieris** se rencontrent principalement dans les tubes de Malpighi et les glandes séricigènes qui prennent alors, lorsque les spores remplissent toutes les cellules, une teinte blanc-porcelainée très caractéristique ; mais on observe aussi des éléments parasitaires dans d'autres tissus, en particulier dans le corps adipeux, les fibres musculaires, l'épithélium intestinal. **P. legeri** ne se rencontre que dans les cellules adipeuses et les cellules sanguines (micronucléocytes et surtout, œnocytoïdes). **Th. mesnili** parasite exclusivement le corps adipeux qui s'hypertrophie considérablement : il se forme ainsi des amas blanchâtres plus ou moins volumineux dont l'aspect macroscopique rappelle celui des kystes à Myxosporidies des Poissons. **Nosema apis** se rencontre dans l'épithélium stomacal de l'Abeille et dans les tubes de Malpighi; **Thelohania corethræ**, Schubert et Rodriguez, dans les œnocytes des larves de **Corethra plumicornis.**

D'une manière générale, l'infection microsporidienne ne détermine pas de lésions cellulaires et tissulaires bien caractérisées. Le plus souvent, la maladie se traduit par une hypertrophie mécanique qui résulte de la multiplication exagérée du parasite dans le cytoplasme. Ainsi Debaisieux a observé un accroissement considérable des dimensions des cellules malpighiennes de **Periplaneta** parasitées par **Peltomyces periplanetæ**, L. et Spl. II, a montré également que les larves de **Simulium** parasitées par **Th. fibrata**, Strick, et **Th. bracteata**, Str., présentaient de véritables tumeurs dans le tissu adipeux. Ces tumeurs, dont les contours sont irréguliers, ne sont cependant pas pourvues de membrane enkystante. Chez les larves de **Simulium** parasitées par **Plistophora simulii,** L et Spl. il a constaté la présence, autour des tumeurs du tissu adipeux, de nombreux petits noyaux provenant vraisemblablement du tissu normal de l'hôte.

D'après Kudo, les espèces du genre **Glugea** semblent attaquer certaines cellules de l'hôte qui se développent en kystes de grandes dimensions (« glugeacysts »).



Les observations que j'ai pu faire jusqu'ici chez les Insectes montrent que l'action cytotoxique des Microsporidies est très faible ; on n'observe même pas ces altérations du chondriome si manifestes au cours de certaines infections microbiennes ou même de maladies amicrobiennes comme celles que j'ai étudiées chez le Ver à soie (dysenterie des filatures, dysenterie flaccidiforme, pseudo-flacherie). Les Insectes parasités succombent lorsque l'infection est généralisée et que les organes cessent de fonctionner par suite de leur envahissement par le parasite. En général, les chenilles de **Pieris brassicae** parasitées par **P. mesnili** et **P. pieris** peuvent se chrysalider normalement et donner naissance à des imagos. On sait également que beaucoup de Vers à soie atteints de Pébrine donnent des Insectes parfaits qui peuvent eux-mêmes pondre.

Des altérations nucléaires ont pu être observées parfois dans certaines cellules parasitées par les Microsporidies. Dans les tumeurs du corps adipeux des larves de Simulium parasitées par **Th. multispora,** Str., **Th. fibrata,** Str., **Th. bracteata,** Str., **Plistophora simulii.** L. et Spl., Debaisieux et Gastaldi ont observé la présence de noyaux-hôtes parfois énormes, anormaux et hypertrophiés. Ces noyaux avaient été pris par différents auteurs pour des noyaux végétatifs de Microsporidie. Léger et Duboscq, étudiant une Microsporidie nouvelle (**Gurleya francottei**), parasite de l'intestin d'une larve de **Ptychoptera,** ont montré que le noyau des cellules épithéliales parasitées était fortement hypertrophié et qu'il présentait d'autre part des altérations pouvant aller jusqu'à la chromatolyse et la kariolyse. La chromatine se rassemble en quelques blocs à la périphérie du noyau et perd sa chromaticité.

Dans le sang des chenilles de Piérides parasitées par **P. legeri,** j'ai observé des réactions cellulaires assez curieuses : les œnocytoïdes parasités ou non s'hypertrophient atteignant ainsi des dimensions considérables. Cette hypertrophie est nettement plus marquée sur le protoplasme que sur le noyau ; ce dernier, au lieu de se présenter sous l'aspect d'un semis régulier de grains chromatiques bien isolés les uns des autres, a tendance à se transformer en une masse de structure irrégulière dans laquelle les grains de chromatine ne sont plus individualisés (Fig. 19). Il ne faut pas confondre cette hypertrophie avec celle qui a pour cause l'action des larves parasites d'**Apanteles glomeratus.** Dès l'année 1918, j'avais signalé l'existence de cellules géantes dans le sang des chenilles apantélisées ; certaines d'entre elles atteignent des dimensions telles (jusqu'à 150 μ) qu'on peut les apercevoir à l'œil nu. Comme

les œnocytoïdes normaux, elles peuvent être parasitées par **P. legeri** ; on les confond alors avec des kystes ; la confusion est d'autant plus facile que la couche cytoplasmique externe se différencie de la couche profonde. Leur structure ne présente rien de commun avec celle des œnocytoïdes normaux ni même avec celle des œnocytoïdes hypertro-

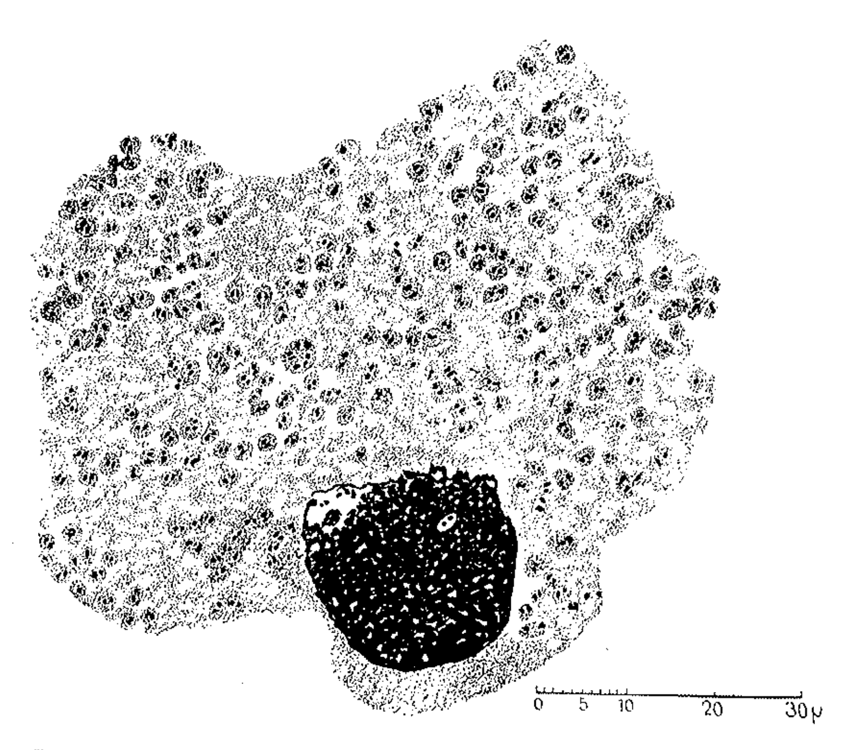



**Fig. 10.** — Oenocytoïde de chenille de **Pieris brassicæ** parasité par **P. legeri**. Coloration au Giemsa.

phiés décrits précédemment, de sorte qu'il est assez difficile de déterminer leur origine. L'étude cytologique du sang de jeunes chenilles de Piérides parasitées par **Apanteles** a permis cependant de constater l'existence de formes de passage entre les œnocytoïdes normaux et les cellules géantes.

Nous verrons, en étudiant les maladies à virus filtrant de **Pieris**, que les œnocytoïdes peuvent également s'hypertrophier sous l'action de l'ultravirus ; mais, dans ce cas, on observe une véritable multiplication



nucléaire, ou plutôt, une sorte de bourgeonnement du noyau qui aboutit à la formation de noyaux secondaires à chromatine plus ou moins condensée.

Ainsi la présence dans la cavité générale des chenilles de parasites aussi différents que l'**Apanteles glomeratus**, **Perezia legeri** et l'ultravirus, a pour effet une modification profonde de la structure cytologique des œnocytoïdes ; mais si, dans tous les cas, ces éléments apparaissent fortement hypertrophiés, on note par contre des différences considérables dans les processus réactionnels qui se déroulent dans la cellule et plus particulièrement au niveau du noyau.

**Réactions d'immunité.** Il n'a pas encore été signalé jusqu'ici de cas d'immunité contre les Microsporidies. Cependant, Pasteur, Bolle, Stempell ont constaté que les races japonaises de Vers à soie sont plus résistantes à la pébrine que les races européennes ; des constatations analogues ont été faites pour les Abeilles au sujet de leur réceptivité vis à vis du **Nosema apis.** Mais on peut se demander s'il s'agit là d'immunité proprement dite ; la résistance plus grande de certaines races (il ne s'agit pas de résistance absolue) peut être due simplement au fait que les barrières naturelles qui, chez tous les êtres vivants, s'opposent aux infections en général, offrent une résistance plus grande au Nosema. On ne saurait assimiler la résistance ainsi opposée à l'envahissement du corps par le parasite, à une réaction d'immunité, celle-ci ne pouvant se manifester que dans l'organisme lui-même.

## TRANSMISSION DES MICROSPORIDIOSES

Un certain nombre de maladies à Microsporidies peuvent se transmettre facilement d'individu à individu par la voie intestinale ; ce sont en particulier celles dont les éléments parasitaires se multiplient électivement dans les cellules épithéliales du tube digestif ou dans celles des tubes malpighiens et des glandes salivaires ou séricigènes. Ainsi il est très facile d'infecter **per os** des chenilles de **P. brassicae** avec des spores de **P. mesnili** et **P. legeri** : il suffit de leur donner un seul repas de feuille de chou contaminée par simple badigeonnage avec une émulsion de spores. Il est facile de même d'infecter des Vers à soie avec le **Nosema bombycis** ou des chenilles de **Pyrausta nubilalis** avec **P. pyraustae** Pail. Par contre, il a été impossible d'infecter artificiellement les chenilles de Piérides avec spores de **Th. mesnili.**

Comment se fait l'infestation des chenilles ? Les auteurs admettent en général que le filament enroulé dans la capsule polaire se dévagine tout d'abord sous l'action des ferments de la digestion ; puis a lieu la sortie du sporoplasme par l'ouverture micropylaire ; ainsi se trouve libéré le germe amiboïde ou planonte. C'est par le planonte que commence le cycle évolutif du parasite dont les différents stades ont été décrits précédemment. D'après STEMPELL, le planonte peut se mutiplier dans le cœlome où il pénètre après s'être insinué entre les cellules épi-

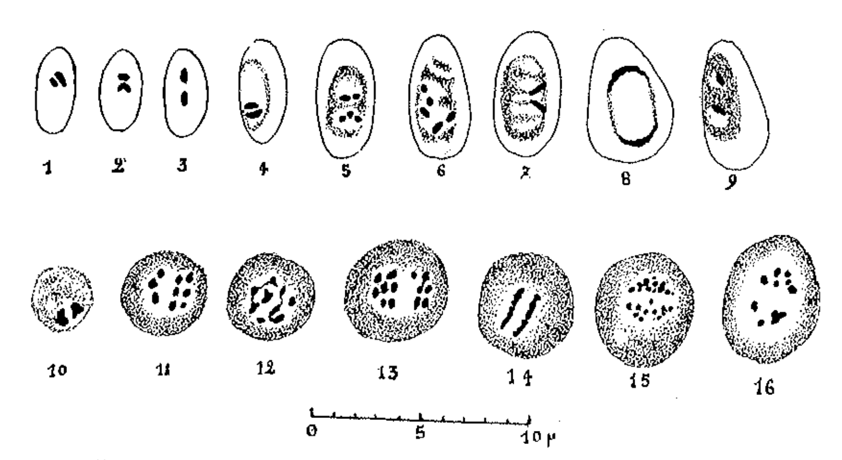


Fig. 11. — Premiers stades du développement de **Nosema bombycis** dans l'intestin du Ver à soie à partir de la spore.

théliales de la paroi intestinale. Cette multiplication du planonte n'a pu être confirmée par les différents auteurs qui ont étudié le **N. bombycis.**

Moi-même, étudiant les premiers stades de développement de cette Microsporidie, je n'ai pu observer de figure confirmant la sortie du germe sporal par l'ouverture micropylaire ; par contre, j'ai constaté très nettement que, dans certaines spores, le germe devient de plus en plus apparent et grossit jusqu'à remplir toute la cavité de la spore dont les parois disparaissent. Il n'y aurait donc pas sortie du germe, mais rétablissement des échanges nutritifs à travers l'enveloppe sporale devenue perméable à la suite de son séjour dans l'intestin. Tout se passerait en somme comme chez les Bactéries sporulées. Le planonte pénètre ensuite directement dans les cellules épithéliales de l'intestin et se transforme en schyzonte qui se multiplie activement.



Des phénomènes semblables ont été observés dans l'évolution de **P. pieris.** Si l'on examine le contenu intestinal d'une chenille de **P. brassicae** ayant ingéré quatre jours auparavant des spores mûres, on peut observer, parmi les spores non modifiées, quelques formes amibiennes de petite taille visibles dans l'intérieur de l'enveloppe sporale qui apparaît plus ou moins gonflée (Fig. 12, **1-3**) ; le germe remplit peu à peu toute l'enveloppe et s'arrondit ; ainsi prend naissance le planonte,

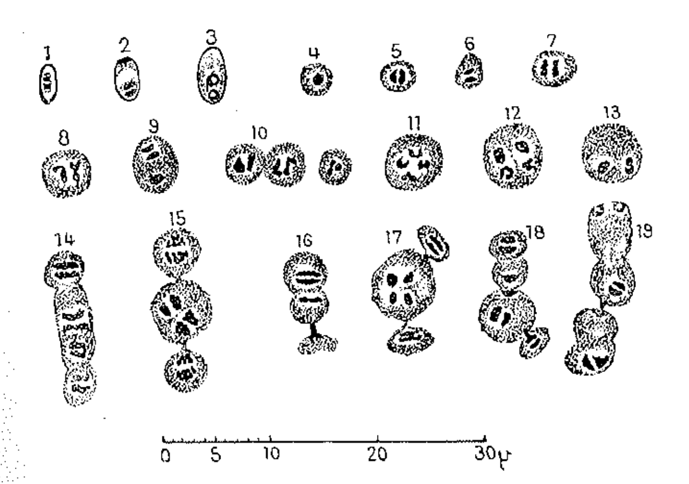


Fig. 12. — Premiers stades d'évolution de **P. mesnili** dans le contenu intestinal de chenilles de **P. brassicæ** infestées per os.

c'est-à-dire le stade extra-cellulaire du parasite. Certains planontes n'ont qu'un seul noyau, mais le plus grand nombre sont binucléés (**5-8**). Il est peu vraisemblable que le noyau des éléments uninucléés résulte de la copulation des deux noyaux du germe, ainsi que l'admet STEMPELL pour **N. bombycis.** Six jours après l'ingestion des spores, les formes amibiennes se rencontrent en plus grand nombre dans le contenu intestinal des chenilles contaminées ; elles sont plus volumineuses que les germes issus directement des spores ; la plupart sont en voie de multiplication et renferment un double-noyau semblable à celui des formes schyzogoniques ordinaires. On observe en outre de véritables figures de bourgeonnement ainsi que des chaînettes à plusieurs éléments binucléés.

Comme nous l'avons dit précédemment, la transmission expérimentale par la voie intestinale des microsporidioses causées par **P. legeri** et

**Th. mesnili** n'est pas possible ; de même l'inoculation de spores dans la cavité générale ne donne aucun résultat positif ; mais ce fait n'est pas pour nous surprendre puisque la plupart des microsporidioses, même celles qui se transmettent facilement par la voie intestinale, ne peuvent être reproduites par simple introduction de spores dans la cavité générale. La transmission par l'intermédiaire de l'œuf est peu vraisemblable: en effet, les éléments parasitaires ne se rencontrent pas dans les cellules sexuelles ; d'autre part, le pourcentage des chenilles parasitées est extrêmement faible. Toutes les chenilles trouvées en état d'infection étaient également parasitées par l'**Apanteles glomeratus** ; est-ce là une preuve que cet Hyménoptère joue un rôle direct ou indirect dans la transmission naturelle de la maladie ? Cependant les larves d'**Apanteles** ne présentent aucun signe d'infection et les nombreuses spores qu'elles ingèrent avec leur nourriture passent sans aucune modification dans le tube digestif ; on peut même les retrouver dans le tube digestif des Insectes parfaits.

Il paraît bien prouvé cependant que les Hyménoptères parasites peuvent jouer un rôle actif dans la transmission naturelle des maladies infectieuses chez les Insectes : j'ai montré en particulier qu'on rencontrait très souvent, dans la cavité générale des chenilles de Piérides parasitées par les **Apanteles**, un Vibrion peu pathogène pour ces chenilles ; ce Vibrion ne se rencontre jamais chez les chenilles saines.

Guyénot et Naville, étudiant la transmission à la Couleuvre d'une maladie causée par **Glugea danilewskyi**, se sont demandé si l'infestation, au lieu d'être directe, ne serait pas indirecte et si, par exemple, le Trématode de l'estomac, qui se rencontre très souvent chez les Couleuvres et qui est lui-même bien souvent parasité par une Microsporidie très voisine, sinon identique à celle de la Couleuvre, ne jouerait pas le rôle d'hôte intermédiaire. « Le fait, disent-ils, que les spores du Trématode peuvent, en raison de certaines de leurs localisations, sortir de leur hôte et être rejetées dans les cavités stomacale ou intestinale de la Couleuvre, permet de comprendre comment ces spores pourraient donner sur place des germes capables d'infester l'hôte vertébré ». Malheureusement, la preuve de cette conception n'a pu être apportée par les auteurs.

Par contre, en étudiant **Gl. ghigii** également parasite de la Couleuvre, les mêmes auteurs ont pu montrer que l'infection d'un Cestode parasite pouvait se communiquer à l'hôte lui-même. « Lorsque, disent-ils, le Cestode abandonne son kyste primitif et effectue ses migrations, son trajet est fréquemment jalonné, ainsi que nous l'avons indiqué, par une sorte de boyau formé de cellules adipeuses identiques à celles de l'enveloppe interne des kystes dans lesquels le ver, en passant, a essaimé ses Microsporidies ». Autre constatation importante faite par les auteurs : « A partir de la paroi kystique interne, rayonnent des bourgeons végétatifs du tissu conjonctif parasité qui renferment eux-mêmes la même Microsporidie ». Il apparaît donc des plus vraisemblables que les Trématodes parasites de la Couleuvre peuvent jouer le rôle d'agent vecteur vis à vis des maladies à Microsporidies de ce Vertébré.



Deux auteurs italiens, Pigorini et Teodoro, ont attiré l'attention des sériciculteurs sur l'importance du rôle joué par les Mouches domestiques dans la dispersion des germes de **Nosema bombycis**. D'après ces auteurs, les spores peuvent être transportées mécaniquement par les pattes ou par l'intermédiaire du contenu intestinal. Teodoro a pu démontrer expérimentalement que les excréments des Mouches nourries avec pâtée de vers pébrinés sont riches en spores et que celles-ci sont capables d'engendrer la pébrine lorsqu'elles pénètrent dans le tube digestif de Vers à soie sains. Les Mouches qui se sont nourries naturellement de cadavres de vers pébrinés peuvent ainsi contaminer par leurs excréments des éducations saines et être l'origine de graves épidémies. Les spores transportées mécaniquement par les pattes peuvent également intervenir activement dans la dispersion de la maladie.

De même, les larves entomophages de Tachinaires, comme celles de la « Mouche Oudji », très répandues dans les pays d'Extrême-Orient, peuvent jouer un rôle important dans la propagation de la pébrine. G. Fabre a attiré l'attention sur l'intervention d'une espèce voisine ou peut-être identique, la Mouche « con nhang » très répandue au Cambodge.

La transmission héréditaire joue le rôle principal, semble-t-il, dans la dispersion des maladies à Microsporidies les plus répandues. Ainsi dans le cas des Piérides parasitées par **P. mesnili**, le pourcentage des pontes parasitées peut atteindre 50 % certaines années ; on ne peut dire cependant que la mortalité due à ce parasite soit très importante.

Article 2

## LES INFECTIONS INTESTINALES A GREGARINES

Les Grégarines, comme les Microsporidies, se reproduisent par spores; ce sont pour la plupart des parasites secondaires ; beaucoup même sont plutôt des commensaux que des parasites véritables.

### MORPHOLOGIE DE LA CELLULE GRÉGARINIENNE

Le corps de la Grégarine apparaît généralement divisé en 3 parties bien distinctes : l'épimérite qui constitue la partie la plus antérieure et dont l'extrémité est pourvue ou non d'organes de fixation ; le protomérite, plus large, qui lui fait suite ; le deutomérite, séparé du segment précédent par un étranglement plus ou moins profond et souvent par un septum, représente la partie principale de la Grégarine et renferme habituellement le noyau. Quelques espèces possèdent un deuxième noyau situé dans le protomérite ; ce noyau a été bien mis en évidence par D. Mühl chez différentes espèces de Grégarines parasites de **Tenebrio molitor.**

La structure de la cellule grégarienne est assez complexe. D'après Schewiakoff qui a étudié plus spécialement **Clepsidrina (Gregarina) munieri**, Schn. et **Echinomera hispida,** A. Schn., on peut distinguer 5 couches différentes : la cuticule ou épicyte qui est striée transversalement et mesure 2 μ d'épaisseur en moyenne ; la couche gélatineuse ; l'ectoplasme proprement dit ; la couche à myofibrilles dans laquelle on observe des fibrilles circulaires reliées entre elles par de fines anastomoses ; enfin l'endoplasme qui représente la partie fondamentale de la cellule. Schewiakoff a pu observer la sortie de la substance gélatineuse de la couche sous-cuticulaire; d'après D. Mühl, elle coule entre les stries de la cuticule par de véritables pores visibles dans certaines conditions d'observation microscopique. Les Grégarines sont douées de mouvements actifs et de mouvements passifs ; le mécanisme du mouvement actif a été bien étudié par D. Mühl qui a mis en évidence les contractions du corps cellulaire et le rôle des myofibrilles. L'auteur admet que la Grégarine se déplace à la fois en nageant et en rampant.



Les études récentes, en particulier celles de Joyet-Lavergne, ont montré que la cellule grégarinienne, comme les cellules des animaux plus évolués, est pourvue d'un chondriome abondant bien différencié qui joue certainement un rôle important dans l'élaboration des substances de réserves. De même l'appareil de Golgi se présente, d'après Joyet-Lavergne, « comme un appareil évolué tout à fait semblable à celui des Métazoaires ». Des inclusions plus ou moins abondantes se rencontrent dans le cytoplasme ; elles sont constituées par des réserves albuminoïdes, des lipoïdes ou des graisses et par du paraglycogène.

### GENERALITÉS SUR LA SYSTÉMATIQUE

Doflein distingue trois grands groupes :

Les Eugrégarines dont les individus ne se multiplient jamais par schyzogonie ;

Les Schyzogrégarines qui se multiplient à la fois par schyzogonie et par spores ;

Les Aggregata qui se multiplient également par schyzogonie mais qui changent d'hôte. Il semble, d'après les travaux récents, que ce groupe doit être détaché des Grégarines et rattaché aux Coccidies.

Les parasites des Insectes appartiennent surtout au premier groupe. Les Eugrégarines se divisent en Monocystidae dont le corps est indifférencié et en Policystidae caractérisés par l'apparence nettement segmentée du corps. Les Policystidae renferment la plupart des Grégarines parasites d'Insectes et comprennent les familles suivantes : Grégarinides, Sténophorides, Didymophides, Dactylophorides, Actinocéphalides, Ménosporides, Stylorhynchides et Doliocystides. Il n'entre pas dans le cadre de cet ouvrage de préciser les caractères de chacune de ces familles et d'étudier les différents genres et espèces qui les composent. Le lecteur se reportera aux ouvrages consacrés plus spécialement aux Protozoaires, en particulier à celui de Doflein.

### DÉVELOPPEMENT DES GRÉGARINES

Je mentionnerai brièvement, d'après Léger et Duboscq, les principaux types de développement étudiés par ces auteurs. Quatre types différents ont été observés par eux chez les Trachéates :

Dans un premier type représenté par le genre **Pterocephalus** dont deux espèces parasitent le tube intestinal des Scolopendres, le sporozoïte qui s'échappe du kyste ingéré par l'hôte se fixe à la surface de

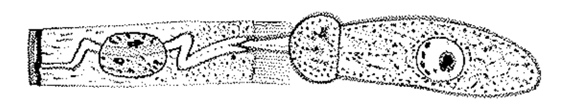


**Fig. 13.** — **Pixinia möbuzi.** Céphalin montrant l'épimérite en forme de trompe atteignant la basale. Gross.: 1100 (d'après Léger et Duboscq).

la cellule épithéliale ; la Grégarine qui résulte du développement du sporozoïte reste extracellulaire pendant toute sa vie végétative.

Dans un deuxième type représenté par les **Pixinia,** le sporozoïte pénètre par sa partie antérieure dans une cellule épithéliale ; la jeune

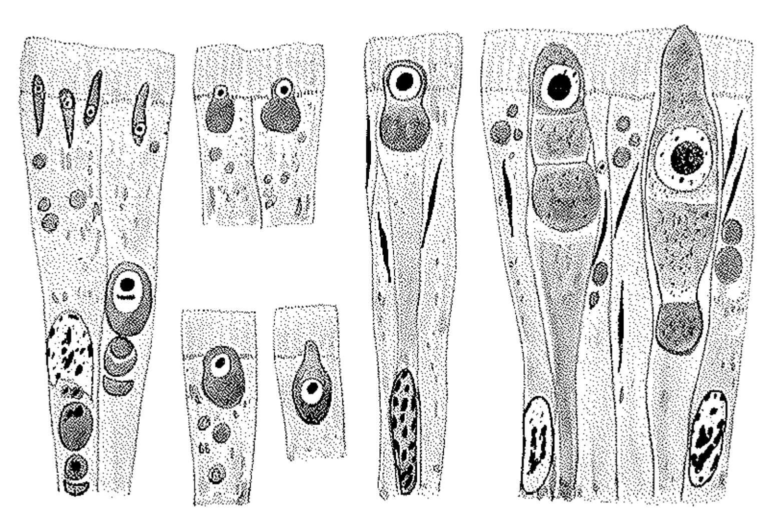


**Fig. 14.** — Développement de **Gregarina cuneata** F. et cellules de l'épithélium intestinal de la larve de **Tenebrio molitor** L. Gross.: 1240 (d'après Léger et Duboscq).

Grégarine se développe surtout en dehors de la cellule mais reste en communication avec l'intérieur de celle-ci par un rostre allongé et fin qui s'enfonce jusque dans la région basale. Lorsque la Grégarine est complètement développée, le rostre s'atrophie et le parasite se détache de la paroi.



Le troisième type de développement décrit par Léger et Duboscq est de beaucoup le plus fréquent chez les Insectes. Chez **Gregarina cuneata,** F. St., parasite de la larve de **Tenebrio molitor** (Ver des farines), le sporozoïte vermiculaire pénètre plus ou moins profondément dans la cellule épithéliale (Fig. 14), puis grossit et prend la forme d'une olive ou d'une poire ; le noyau, d'abord extracellulaire, émigre

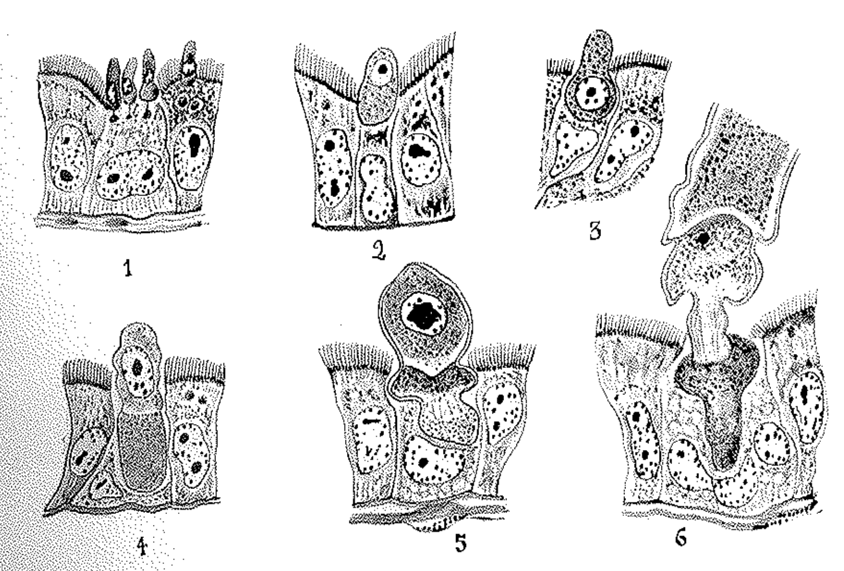



**Fig. 15.** — Evolution de **Stylorhynchus oblongatus,** Ham.: 1. Premiers stades avec condensation du rostre; 2. Stade de monocystidée avec noyau encore distal ; 3. Stade de calebasse; 4. Epimérite définitif et protodeutomérite; 5. Jeune céphalin à 3 segments; 6. Grand céphalin fixé dans une cellule à noyau amitotique. Gross.: 1000 (d'après Léger et Duboscq).

vers la partie antérieure puis revient dans la partie postérieure qui se développe activement pour donner le protodeutomérite séparé du protomérite intracellulaire par un étranglement. Par la suite, le protodeutomérite se segmente à son tour et la Grégarine, à laquelle on donne le nom de céphalin, est définitivement constituée. Quand elle se détache de la paroi, elle perd son premier segment et prend le nom de sporadin.

Chez **Stylorhynchus longicollis,** F. St., parasite de **Blaps mucronata,** Latr., et **St. oblongatus,** Hamm., parasite d'**Olocrates gibbus,** Fabr., Léger et Duboscq ont noté les stades de développement suivants (fig. 15) :

« I. — Le sporozoïte, pourvu d'un noyau à suc colorable, à chromatine en anneau ouvert, enfonce la partie antérieure de son corps dans le cytoplasme d'une cellule intestinale, tandis que la partie postérieure contenant le noyau reste extracellulaire. Le rostre s'allonge d'abord en une racine pendant que le corps se renfle (fig. 15, **1**).

II. — Le rostre allongé se condense en une sphérule ou cupule qui constitue l'épimérite transitoire. Noyau à calottes chromatiques polaires et à petit caryosome excentrique (Fig. 15, **2**).

III. — L'épimérite transitoire disparaît et la jeune Grégarine prend la forme d'une petite olive. Noyau à grains de chromatine périphériques et à petit caryosome excentrique.

IV. — La Grégarine devient une monocystidée en forme de calebasse. Epicyte bien visible. Cytoplasme granuleux. Le noyau à membrane achromatique et à gros caryosome central devient proximal (1[re] migration nucléaire) (Fig. 15, **3**).

V. — Séparation d'un épimérite à cytoplasme dense et à épicyte mince et d'un gros protodeutomérite à cytoplasme clair et à épicyte épais. Le noyau à gros caryosome bourgeonnant retourne dans ce protodeutomérite distal (2[e] migration nucléaire) (Fig. 15, **4**).

VI. — La partie extracellulaire prend un développement considérable. Un septum délimite le protomérite et le deutomérite contenant le noyau à caryosomes nombreux (Fig. 15, **5**).

VII. — Formation du col aux dépens du protomérite. Apparition dans le deutomérite des sphérules de paramylon. Le céphalin est définitivement constitué (Fig. 15, **6**).

Le dernier type de développement des Grégarines est représenté par les **Stenophora** parasites de Myriapodes ; il est caractérisé par le développement intracellulaire de la Grégarine qui n'est mise en liberté que par la destruction et la chute de la cellule parasitée. »

## MULTIPLICATION SPORULÉE CHEZ LES GRÉGARINES

Lorsque la vie végétative du Céphalin est terminée et que la Grégarine abandonne la paroi épithéliale de l'hôte, elle se transforme en sporadin ; deux céphalins le plus souvent morphologiquement différents l'un de l'autre, s'accouplent et s'enkystent (Sizygite) ; à l'abri de la paroi kystique s'élaborent les macro- et microgamètes qui fusionnent ensuite et donnent naissance à des copulae qui évoluent en sporozoïtes. Telles sont dans ses grandes lignes les différentes phases de la sporulation chez les Grégarines en général. Je résumerai brièvement, d'après les conclusions générales de l'important mémoire consacré par





**Fig. 16.** — Développement de **Gregarina cuneata**. Phase d'accouplement. Différence nette dans la coloration des granulations intracellulaires des deux conjoints après action du rouge neutre. Gross. : 210 (d'après D. Muhl).

Léger et Duboscq à l'étude de la sexualité chez les Grégarines, les principaux caractères de la multiplication sporulée.

On peut observer, chez certaines espèces de Grégarines arrivées au terme de leur vie végétative, des transformations morphologiques qui

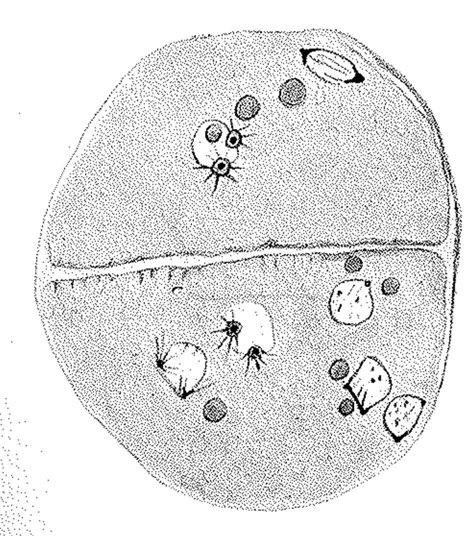


**Fig. 17.** — Kyste de **Pterocephalus striatus** au début de la multiplication des noyaux (d'après Léger et Duboscq).

correspondent à une véritable maturation sexuelle ; dans les nombreux cas où la fécondation est hétérogame, on distingue nettement les individus mâles des femelles, sinon par la forme extérieure, du moins par la structure interne. L'attraction sexuelle est évidente chez beaucoup

d'espèces mais se manifeste à des degrés variables suivant les espèces. Les conjoints, que l'on désigne souvent sous les noms de primite et satellite, s'enkystent ; le kyste de forme arrondie est désigné aussi sous le nom de sizygite ; on constate une expulsion de substance d'abord mucoïde puis liquide. Les phénomènes de gamétogénèse sont précédés par des modifications profondes du noyau qui se désagrège en donnant naissance à un noyau secondaire plus petit qui se multiplie par mitose ou se transforme directement en fuseau avec plaque équatoriale. La formation des gamètes suit la multiplication nucléaire ; les gamètes mâles sont généralement pourvus d'un flagelle ; ils peuvent donc se mouvoir ; cette mobilité des gamètes mâles a été observée pour la première fois chez les **Gregarina** par SCHNEIDER qui l'a décrite sous le nom de « danse des sporoblastes ». La formation des gamètes est accompagnée d'une véritable réduction chromatique chez les **Gregarina**.

Gamètes mâles et femelles fusionnent pour donner naissance à un élément nouveau : la copula qui prend bientôt la forme définitive du sporocyte. La fusion est complète et intéresse aussi bien le protoplasme que le noyau. Dans chaque copula, le noyau se divise deux fois consécutivement par mitose et donne ainsi naissance à 8 noyaux-fils qui représentent chacun le noyau d'un sporozoïte.

## ANATOMIE PATHOLOGIQUE DES INFECTIONS INTESTINALES A GRÉGARINES

Les Insectes parasités par des Grégarines ne se distinguent pas des Insectes normaux ; les lésions causées par ces parasites sont en effet trop peu importantes pour avoir une influence sur la morphologie externe de l'hôte.

L'espèce parasite des larves de **Ptychoptera,** et étudiée par LÉGER et DUBOSCQ sous le nom de **Pterocephalus striatus,** détermine un accroissement des dimensions des cellules parasitées. « L'hypertrophie, disent les auteurs, doit être attribuée à une action irritante de la Grégarine, soit que, avec SCHAUDINN, on l'explique par une nutrition intensive consécutive à l'affamement ; soit qu'on veuille y voir, comme SIEDLECKI, une intoxication par les produits d'excrétion de la Grégarine ». C'est à la première opinion que se rangent LÉGER et DUBOSCQ. Le noyau s'hypertrophie également puis sa structure se modifie ; les grains de



chromatine sont remplacés par de petites vésicules à centre clair, à périphérie muriforme (Fig. 19) ; mais ils ne peuvent être considérés comme des noyaux de dégénérescence.

Dans le cas de **Blaps mucronata,** Latr. parasité par **Stylorhynchus longicollis,** F. St., LÉGER et DUBOSCQ ont noté les altérations cellulaires

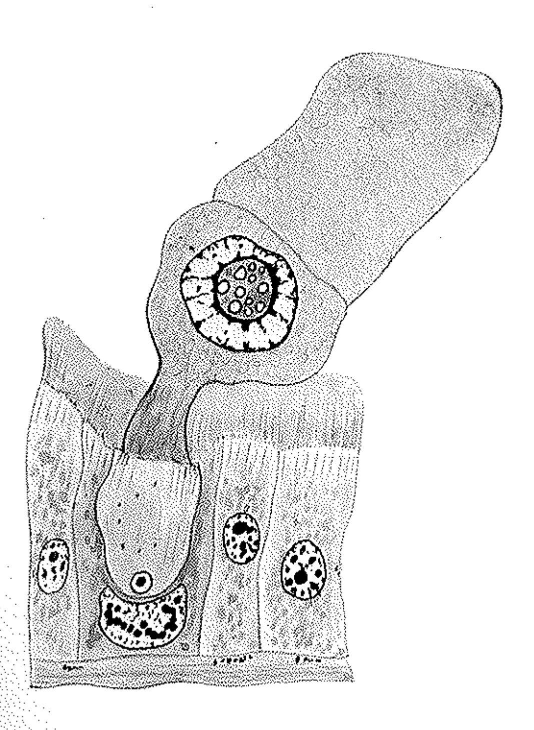


Fig. 18. — Céphalin de **Pterocephalus striatus** dans l'épithélium (d'après Léger et Duboscq).

suivantes : effondrement de la membrane basilaire du plateau qui prend part à la formation de l'entonnoir (Fig. 20) ; lorsque les céphalins atteignent 100 à 150 μ, dégénérescence aqueuse de la cellule qui se gonfle ; émigration du noyau vers la partie supérieure et hypertrophie de celui-ci ; le nucléole apparaît énorme et bourgeonnant et les grains de chromatine se concentrent et s'appliquent sur lui. Des cellules jeunes remplacent les cellules parasitées au fur et à mesure de leur destruction.

Dans le cas de **St. oblongatus,** Hamm. parasite d'**Olocrates,** les altérations cellulaires sont beaucoup moins marquées. LÉGER et DUBOSCQ

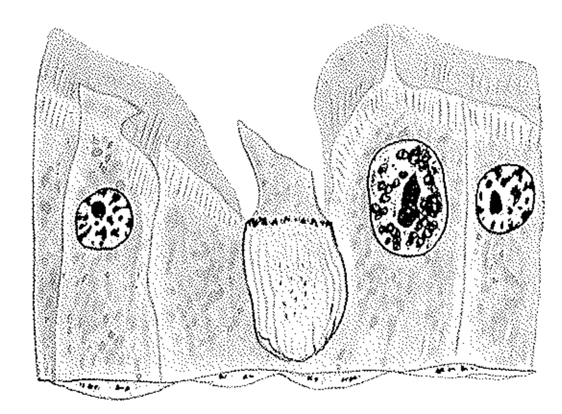


**Fig. 19.** — Cellule épithéliale de l'intestin de la larve de **Ptychoptera** hypertrophiée par l'action de la Grégarine dont l'épimérite seul est représenté (d'après Léger et Duboscq).

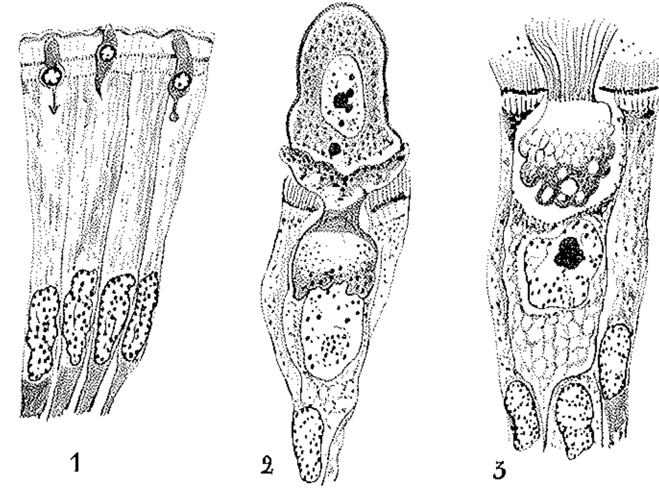



**Fig. 20.** — Evolution de **Stylorhynchus longicollis** F. Str.: 1. Premier stade avec condensation du rostre en épimérite transitoire ; 2. Jeune céphalin à 3 segments ; 3. Epimérite de grand céphalin fixé sur une cellule en dégénérescence aqueuse. Gross.: 1000 (d'après Léger et Duboscq).

n'ont observé que des déformations mécaniques résultant de l'hypertrophie de la cellule. Le noyau attiré par l'épimérite de la Grégarine parasite peut être plus ou moins échancré et même parfois fragmenté ; il en résulte la formation de noyaux amitotiques (Fig. 15).

CHAPITRE II

# Les Flagelloses.

Contrairement aux Protozoaires parasites qui viennent d'être étudiés, les Flagellés ne se reproduisent jamais par spores. Ils sont doués de motilité propre, au moins pendant une partie de leur existence. Ils se rencontrent habituellement dans le tube digestif et dans les tubes de Malpighi ; mais certaines espèces peuvent se multiplier dans la cavité générale. Leur parasitisme est nettement plus marqué que celui des Grégarines ; ils ne jouent cependant qu'un rôle très secondaire dans la destruction naturelle des Insectes.

## CYTOLOGIE DES FLAGELLÉS ENTOMOPHYTES

Les Flagellés parasites d'Insectes sont caractérisés par la forme plus ou moins élancée du corps, la présence d'un flagelle disposé vers l'une des extrémités et en rapport plus ou moins direct par sa base avec un corpuscule chromatophile situé généralement en avant du noyau.

Les recherches effectuées en 1929 par M. et A. LWOFF, sur un Leptomonas parasite de la Puce du Chien (**L. ctenocephali,** Fanth., var. **chattoni,** Laveran et Franchini), ont modifié sensiblement nos connaissances sur la structure cytologique des Trypanosomides d'Insectes. Le blépharoplaste, désigné par les deux auteurs sous le nom de « mastigosome secondaire », est relié par un cône de fibrilles à un deuxième corpuscule situé en avant et qui sert de point de départ au flagelle ; ce deuxième corpuscule est désigné sous le nom de « mastigosome primai-

re » (grain géminé de LÉGER). Le mastigosome secondaire, qui a toujours été représenté sous la forme d'un Bacille plus ou moins trapu,

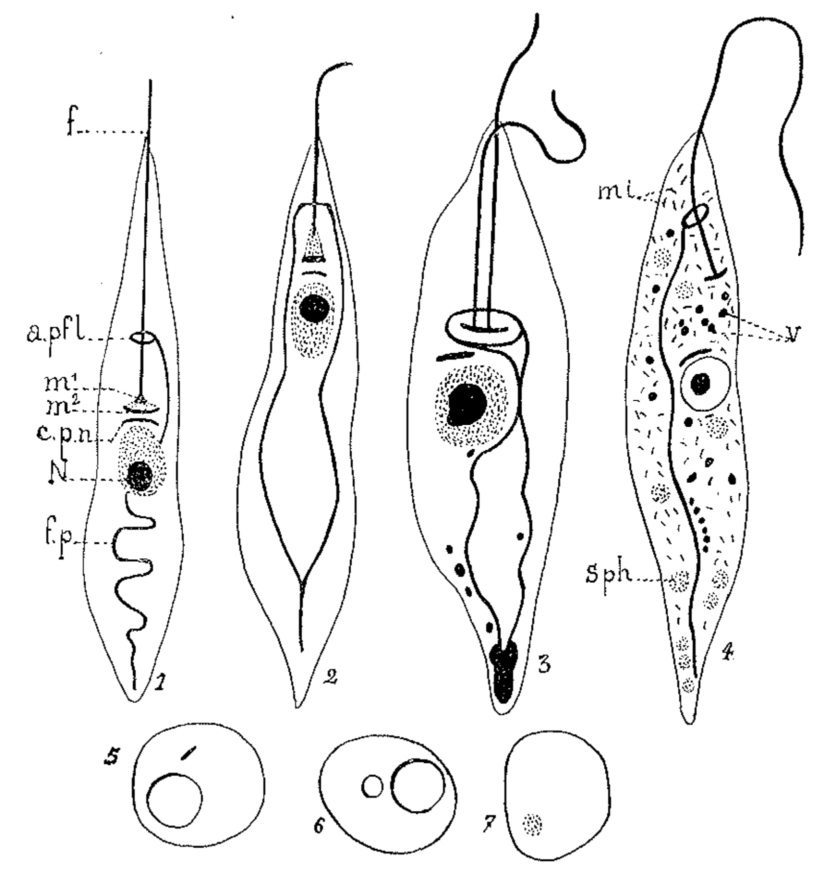



**Fig 21. — Leptomonas ctenocephali** colorés à la fuchsine anilinée d'Altmann après fixation au Champy. 1, individu au repos; 2, individu sans mastigosome primaire montrant le clivage du filament parabasal; 3, individu avec filament parabasal divisé et deux flagelles, contenant des graisses osmiophiles ; 4, schéma montrant le chondriome, le vacuome et les sphérules lipidiques ; 5, 6 et 7, individus sphériques: coloration par le Feulgen après hydrolyse chlorhydrique montrant : 5, mastigosome secondaire vu de profil; 6, mastigosome secondaire vu de face; 7, mastigosome secondaire au vert Janus. **f**, flagelle; **a.pfl**, anneau périflagellaire; **m**[1], mastigosome primaire; **m**[2], mastigosome secondaire; **c. pn**, corps paranucléaire; N, noyau; **f.p**, filament parabasal; **mi**, mitochondries ; **sph. l.**, sphérules lipidiques; v, vacuome (d'après M. et A. Lwoff).

serait en réalité de forme discoïde ainsi qu'il résulte d'observations faites par M. et A. LWOFF sur culture en milieu liquide sur lame de verre (il est possible, dans ces conditions d'examen, d'observer les Flagellés



par leur extrémité antérieure et non latéralement ainsi que cela se produit généralement sur frottis). D'après ces auteurs, l'appareil parabasal ne serait pas constitué par le mastigosome secondaire ainsi qu'on l'admet généralement, mais par un « filament qui court suivant un trajet sinueux, voire hélicoïdal, jusqu'à l'extrémité postérieure du Flagellé ». En dehors de cet appareil parabasal, les auteurs ont mis en évidence des globules lipidiques colorables par le Soudan III, des mitochondries en bâtonnets fins, un « corps paranucléaire » et enfin des sphérules colorables par le rouge neutre qui doivent être homologuées au vacuome tel que le comprennent GUILLIERMOND et PARAT.

Dans un certain nombre d'espèces, on peut mettre facilement en évidence une sorte de canal axial : l'axostyle ou axoplaste. Cette formation a été interprétée comme un double-filament par PROWAZEK, comme des myonèmes par Miss PORTER, comme un simple filament axial (Rhizostyle) par ALEXEIEFF.

## DÉVELOPPEMENT DES TRYPANOSOMIDES ENTOMOPHYTES

D'après CHATTON, le développement des Trypanosomides des Insectes se poursuit de la manière suivante :

1° D'un kyste ingéré par l'Insecte avec sa nourriture, sort un Flagellé de forme aciculée (forme monadienne), à blépharoplaste antérieur au noyau (Fig. 22) ;

2° Les monadiens se transforment en trypanoïdes qui constituent des formes de repos et sont caractérisés par le renflement du corps et la rétrogradation du blépharoplaste qui arrive à passer en arrière du noyau. L'apparition des trypanoïdes correspond à des conditions de développement défavorables ; elle n'est d'ailleurs que momentanée ;

3° Les monadiens se fixent et perdent leur flagelle qui se trouve remplacé par une sorte de houppe muqueuse ; ils sont capables de division ; les formes fixées ressemblent à des Grégarines, c'est pourquoi elles sont dites grégariniennes ;

4° Le stade de repos des grégariniens (stade spermatoïde) est l'équivalent de celui des monadiens ; les spermatoïdes sont caractérisés cytologiquement par une tendance marquée à la conjonction du noyau et du blépharoplaste ;

5° Les spermatoïdes donnent naissance aux kystes ; ces derniers ne sauraient être comparés à ceux des Grégarines ; ils ont en effet pour origine un seul individu dont le corps prend une forme arrondie et dont la membrane s'épaissit pour former une gaîne protectrice.

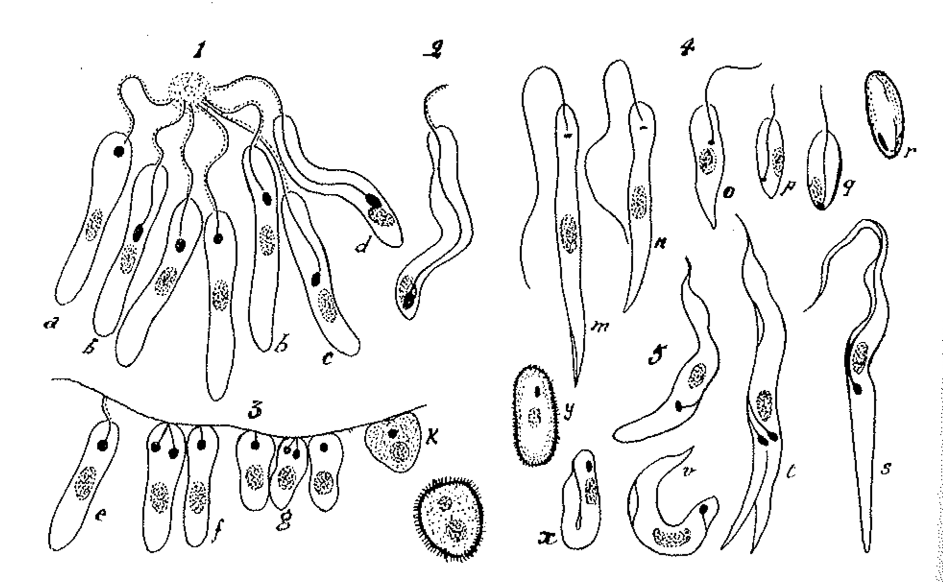



Fig. 22. — 1, 2, 3, Evolution diphasique de **Leptomonas rubro-striatae** Chat. et A. Leger. 1, formes de l'intestin moyen : **a**, monadien (ou aciculé) ; **b, c, d**, stades de la formation des trypanoïdes (leptotrypanosomes) à partir des monadiens. 2, trypanoïde parfait. 3, Formes de l'intestin postérieur : **e, f, g**, grégariniens ; **h**, formation du kyste ; **i**, kyste détaché. 4, Evolution monophasique chez un **Leptomonas** de **Drosophila phalerata** : **m, o**, monadiens ; **p, q**, spermoïdes ; **r**, kyste. 5, Evolution monophasique chez **Trypanosoma drosophilae** Chatt. et Alil. : **s, t**, formes végétatives monadiennes ; **u, v**, trypanosomes ; **x**, enkystement ; **y**, kyste (d'après Chatton et A. Léger).

Cette évolution des Trypanosomides d'Insectes est qualifiée de diphasique par CHATTON et A. LÉGER ; elle peut être simplifiée plus ou moins par suppression d'un ou plusieurs stades ; dans beaucoup de cas par exemple, elle peut être monophasique.

En général, les Trypanosomides des Insectes se rencontrent seulement dans le tube digestif, mais ils peuvent également parasiter les tubes de Malpighi et même se multiplier dans la cavité générale. L'espèce que j'ai décrite sous le nom de **Leptomonas pyraustae** parasite à la fois le tube digestif et les tubes de Malpighi. Les éléments parasitaires du



tube digestif sont de forme plus ou moins élancée, à noyau le plus souvent compact situé dans la région antérieure de la cellule ; le blépharoplaste placé en avant du noyau apparaît logé au fond d'une cavité protoplasmique qui se prolonge jusqu'à l'extérieur ; en bordure de cette cavité, mais à l'extérieur, on observe la présence de grains éosinophiles ou de filament court se prolongeant en flagelle (Fig. 23). Un certain nombre d'individus sont mobiles ; ils sont donc pourvus d'un flagelle normal, mais celui-ci n'est pas facile à mettre en évidence ; dans certains frottis, il apparaît en négatif. La division a lieu suivant le mode classique (Fig. 23, **3, 4, 5** et **6**) : le blépharoplaste rétrograde et se place




Fig. 23. — Stades évolutifs de **Leptomonas pyraustae**.
1-3, éléments parasitaires des tubes de Malpighi ; 4-6 éléments du tube digestif.

sur le même plan que le noyau ; blépharoplaste et noyau se divisent ensuite dans le sens longitudinal ; les deux éléments qui résultent de la division cytoplasmique restent accolés plus ou moins longtemps par leur partie postérieure ; s'ils se divisent de nouveau avant que la séparation soit définitive, il se forme des rosettes d'éléments ; celles-ci sont toutefois beaucoup plus rares que chez d'autres espèces de Flagellés. En dehors des éléments à partie antérieure renflée qui peuvent être considérés comme des grégariniens, on en observe d'autres qui correspondent au type aciculé (monadiens) fréquent chez tous les Leptomonas.

Dans les tubes de Malpighi, on n'observe en général qu'une seule catégorie d'éléments ; ce sont ceux qui sont renflés antérieurement ; il existe toutefois des différences assez grandes dans les dimensions des renflements antérieurs entre les divers éléments du tube. Le noyau se présente sous l'aspect d'un semis plus ou moins régulier de petits grains de

chromatine ; le blépharoplaste très intensément coloré est situé en avant du noyau, au fond d'une sorte de crypte non bordée extérieurement de grains éosinophiles. Les inclusions cytoplasmiques chromatophiles sont de taille beaucoup plus réduite que celle des inclusions similaires des parasites du tube digestif (fig. 23).

Dans les chenilles hibernantes de **Pyrausta nubilalis** parasitées, on observe des types cytologiques différents de ceux qui viennent d'être décrits : j'ai représenté dans la figure 24 les plus caractéristiques d'entre eux ; certains, le n° 8 par exemple, correspondent au type normal avec cette différence que le flagelle est assez bien mis en évidence ; celui-ci est en relation avec le blépharoplaste ; d'autres, comme le n° 7, sont également pourvus d'un flagelle relativement court, mais la position du blépharoplaste est modifiée ; on n'observe aucune trace de la cavité protoplasmique antérieure ; quelques inclusions chromatophiles sont visibles en avant du noyau ; la forme rappelle celle des individus dits en « grains d'orge ». Certains éléments ont une forme régulièrement arrondie qui rappelle celle des kystes ; on n'observe pas cependant de différenciation protoplasmique extérieure comme dans les kystes véritables ; le blépharoplaste, quand il existe, est de forme arrondie ; il ne se trouve plus situé au fond d'une crypte protoplasmique ; les inclusions chromatophiles sont dispersées dans toute la couche protoplasmique.

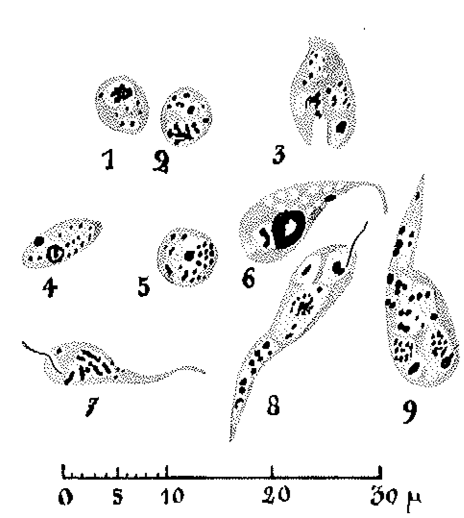



**Fig. 24. — Leptomonas pyraustae.** Types trouvés dans les tubes de Malpighi des chenilles hibernantes de **Pyrausta nubilalis.**

Le sang d'une chenille examinée en février 1928 s'est montré infesté de parasites généralement doués de motilité ; j'ai pu mettre en évidence, sur frottis de sang coloré par le Giemsa, des éléments de forme et de structure très curieuses (Fig. 25) : la plupart d'entre eux sont pourvus d'un flagelle relativement peu allongé en rapport avec le blépharoplaste ; celui-ci est placé au niveau du noyau et souvent très en arrière de ce dernier ; il occupe le fond d'une crypte qui s'ouvre à la partie antérieure du parasite ; la longueur de cette crypte, sa position axiale lui donnent toutes les apparences de l'axostile. On observe, d'autre part, des figures qui paraissent devoir être interprétées comme des phases de conjugaison : les deux individus représentant les gamètes sont accolés l'un à l'autre par leur face latérale ; ils occupent une situation inverse l'un par rapport à l'autre. La copulation a pour résultat la formation d'un élément tel que celui figuré en 9 dans lequel on n'observe ni flagelle, ni cavité protoplasmique antérieure et dont les inclusions chromatophiles sont réparties aussi bien en avant qu'en arrière du noyau.



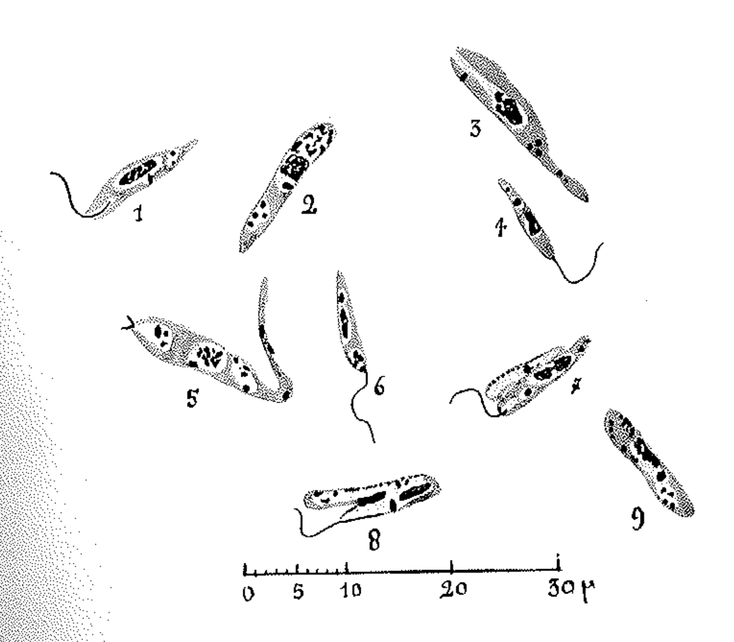



**Fig. 25. — L. pyraustae.** Types trouvés dans le sang de chenille hibernante de **P. nubilalis.**

La présence de Flagellés dans le sang d'Insectes dont le tube digestif est infecté a été fréquemment observée chez les **Pyrrhocoris** par Zotta ; deux autres espèces ont été décrites comme parasites de la cavité générale: **Herpetomonas** (= **Leptomonas**) **bombycis,** Lev., trouvé une fois

par LEVADITI dans la cavité générale d'un papillon de **Bombyx mori**, mais jamais retrouvé depuis ; **H.** (= **Leptom.**) **emphyti**, Hol., rencontré une fois aussi par HOLLANDE dans le sang d'une larve d'**Emphytus cinctus**. En étudiant le sang de chenilles d'**Agrotis pronubana** récoltées dans

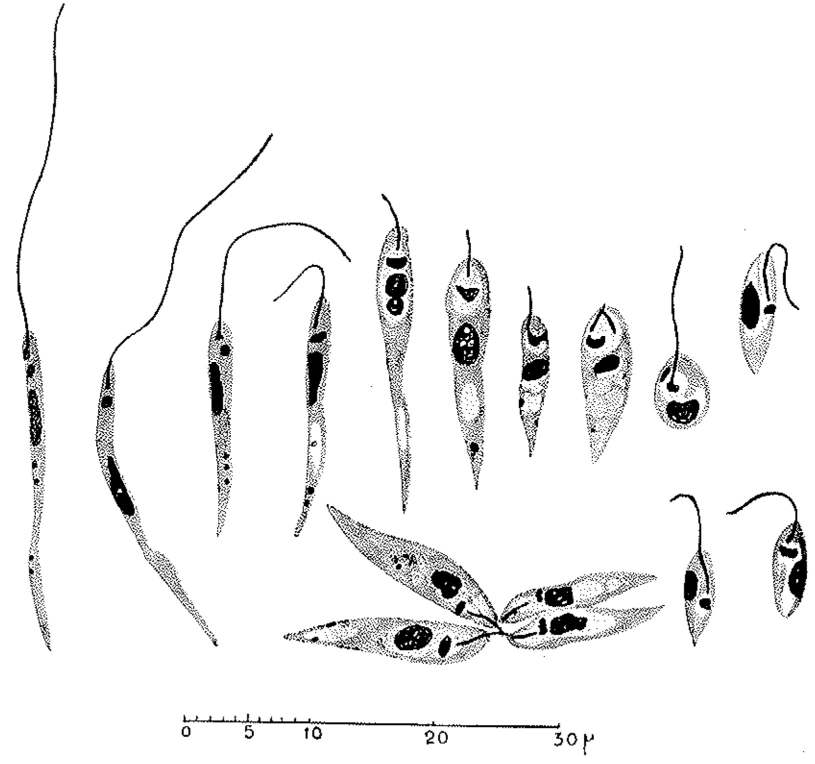



Fig. 26. — Formes de croissance et de division de **Leptomonas chattoni** n. sp. 1-3, individus aciculés à long flagelle; 4-8, formes à court flagelle seules capables de se diviser; 9, rosette à quatre individus, deux en voie de division; 10-13, formes courtes à long flagelle.

un jardin de St-Genis-Laval, j'ai mis en évidence une véritable flagellose sanguine d'allure épidémique, causée par une espèce nouvelle de **Leptomonas** que j'ai décrite sous le nom de **L. chattoni**. On reconnaît, dans l'évolution sanguine du parasite (Fig. 26), les formes différentes observées chez d'autres espèces. J'ai pu étudier **in vitro**, en goutte pendante, l'évolution du parasite dans le sang après avoir rendu ce dernier incoagulable par injection de solution de nucléinate de soude dans la



cavité générale d'une chenille infectée. J'ai observé en particulier les différentes phases de multiplication des Flagellés ; les principales sont

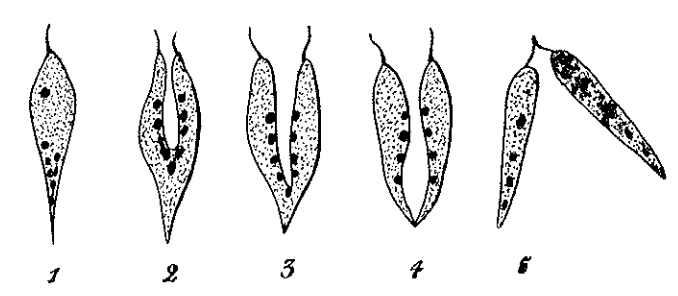



Fig. 27. — Division par scissiparité de **L. chattoni** (étude in vitro) : 1, 11 h. 1/2; 2, 12 h. 1/2; 3, 12 h. 45; 4, 12 h. 50; 5, 13 heures.

représentées dans la figure 27. Les cellules-filles restent unies plus ou moins longtemps par leur flagelle.

## CULTURE DES FLAGELLÉS SUR MILIEUX ARTIFICIELS

On a réussi depuis quelques années à cultiver les Trypanosomides sur milieu artificiel. ZOTTA, en particulier, a pu cultiver **Leptomonas pyrrhocoris**, Zot., qui se rencontre fréquemment dans la cavité générale de **Pyrrhocoris apterus**, sur le milieu de NOVY-NEAL et NICOLLE (milieu gélosé à base de sang de lapin frais désigné généralement sous le nom de milieu NNN). ZOTTA a constaté que les Leptomonas poussent abondamment dans ce milieu mais prennent une forme un peu différente de celle qu'on observe sur le vivant : il y a réduction et souvent disparition du flagelle, rapetissement du corps, rapprochement du noyau et du blépharoplaste. La forme générale du corps se rapproche des formes en « grain d'orge ».

D'autres milieux ont été utilisés par ZOTTA pour la culture de **L. pyrrhocoris** ; il mentionne notamment le milieu liquide à base de cervelle de veau stérilisé à 115°, d'organes stérilisés tels que rate de veau, foie, rein.

GLASER a réussi à cultiver **Herpetomonas muscæ-domesticæ** dans un milieu à base de corps de Vers à soie broyés puis dilués dans l'eau distillée ; la bouillie est filtrée ensuite à travers le filtre Berkefeld « N » sans être stérilisée. Dans les vieilles cultures, l'auteur a observé surtout des formes ovales et arrondies (type **Leishmania**).

## GÉNÉRALITÉS SUR LA SYSTÉMATIQUE DES TRYPANOSOMIDES DES INSECTES

Les Flagellés entomophytes appartiennent à la famille des Trypanosomidae caractérisée par la présence d'un flagelle plus ou moins allongé disposé en bordure du corps et relié à celui-ci par une membrane ondulante ou enfoncé plus ou moins profondément à l'intérieur de celui-ci ; les Trypanosomides sont caractérisés en outre par une formation chromatophile indépendante du noyau, le blépharoplaste, dont la position est variable par rapport à celle de ce dernier.

Les espèces parasites d'Insectes appartiennent à deux genres dont les limites sont assez imprécises : le genre **Herpetomonas** caractérisé par l'existence d'un double-filament prolongeant le flagelle vers la base (« doppelfaden ») ; nous avons vu que, d'après CHATTON, le double-filament représente en réalité le double-bord d'un canalicule axial et que ce dispositif existe chez différentes espèces de **Leptomonas**. « L'intérêt de cette constatation, dit CHATTON, est de montrer que les genres **Leptomonas** et **Herpetomonas** ne sont pas aussi éloignés que nous l'avons pensé tout d'abord, de substituer la notion de continuité à celle de discontinuité comme il arrive en systématique chaque fois que le nombre des formes s'accroît dans un groupe et que s'en approfondit la connaissance ».

## ANATOMIE PATHOLOGIQUE DES FLAGELLOSES

Les lésions cellulaires et tissulaires dues au parasitisme des Trypanosomides sont comparables à celles causées par les Grégarines. Même lorsque l'épithélium intestinal est littéralement tapissé par une couche continue de Flagellés, on ne peut mettre en évidence aucune lésion cellulaire bien nette ; on ne constate même pas de lésion apparente du chondriome qui constitue cependant l'élément le plus fragile de la cellule.

Chez les Drosophiles, plus particulièrement étudiées par CHATTON au point de vue du parasitisme, les **Leptomonas** peuvent se développer soit en-deçà, soit au-delà de la membrane péritrophique de l'intestin moyen. Dans le premier cas, les parasites ne sont pas en contact direct avec la membrane ; l'infection est dite endotrophique ; dans l'autre cas, les Flagellés sont fixés sur les cellules elles-mêmes ; l'infection est dite péritrophique. D'après CHATTON et A. LÉGER, la membrane péritrophique joue un rôle important, « non seulement dans la **localisation** mais encore dans **l'évolution** des infections à Trypanosomides chez les Drosophiles. Dans l'espace péritrophique, le parasite est au contact direct de l'hôte,



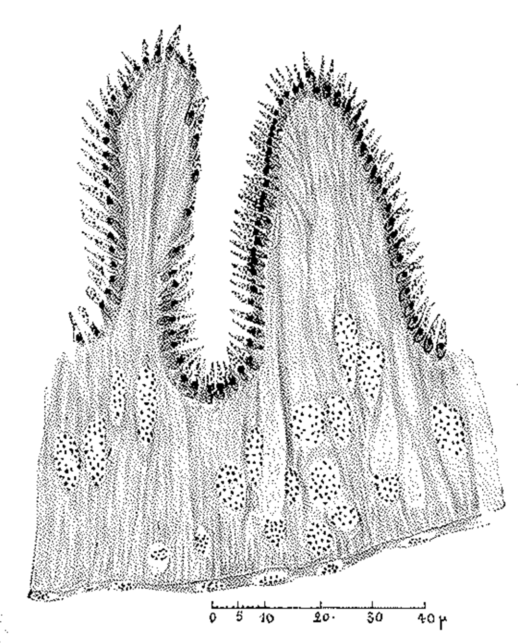



**Fig. 28.** — Epithélium intestinal de **Pyrausta nubilalis** parasitée par **Lept pyraustae.**

subit une **évolution** marquée par une succession de stades aboutissant à la formation d'éléments de résistance qui assurent l'expansion extérieure de l'infection. Dans l'espace endotrophique, le développement des Flagellés est une simple **culture** qui ne peut se propager de mouches à mouches qu'à la faveur de conditions spéciales réalisées dans les élevages à population dense, où les Flagellés mobiles sont réingérés aussitôt évacués. »

## RÉACTIONS D'IMMUNITÉ DANS LES FLAGELLOSES

L'Insecte peut réagir contre l'envahissement de la cavité générale par le Flagellé en phagocytant ces parasites; chez des chenilles d'**Agrotis pronubana** parasitées par **Leptomonas chattoni**, j'ai pu observer sur

frottis de sang coloré par le Giemsa, des micronucléocytes dont la couche cytoplasmique renferme en plus ou moins grande abondance des Flagellés à tous les stades de dégénérescence. En étudiant **in vitro** en goutte pendante le sang des chenilles infectées, j'ai pu constater que cette phagocytose était essentiellement passive. Les micronucléocytes qui restent vivants plusieurs jours dans le sang examiné en goutte pendante, n'émettent en effet que des pseudopodes constitués par de fines trabécules cytoplasmiques rayonnant tout autour de la cellule, mais incapables d'assurer le déplacement de celle-ci ; ils ne peuvent servir de même à la préhension des particules en suspension dans le sang ou des microorganismes vivant dans ce milieu. Des faits analogues ont été mis en évidence par GLASER qui considère également la phagocytose comme un phénomène passif. J'ai constaté que les flagelles de **Leptomonas,** au cours du déplacement des parasites dans le sang, s'accrochaient assez souvent aux trabécules cytoplasmiques des micronucléocytes ; mais l'accrochement est fortuit et la pénétration dans le cytoplasme, qui résulte du voisinage immédiat des deux éléments vivants, ne peut être considérée comme une manifestation effective de l'activité vitale du micronucléocyte.




**Fig. 29.** — Phagocytose de **Lept. chattoni** par micronucléocytes de chenille d'**Agrotis pronubana.**

CHATTON et M. LÉGER ont observé des modifications morphologiques de **Leptomonas** au contact de cellules lésées de l'épithélium intestinal de Drosophiles parasitées. Le Flagellé subit l'influence toxique du suc cellulaire ; cette influence se manifeste non seulement par des changements de forme mais aussi par des altérations profondes pouvant aller jusqu'à la cytolyse. Des altérations analogues se produisent dans les masses agglutinées de Flagellés, l'agglutination étant déjà la conséquence de l'action toxique du suc cellulaire. Ces phénomènes, qui rappellent ceux que l'on observe dans le sang d'Insectes en état d'immunité antimicrobienne, ne peuvent être cependant considérés comme des manifestations normales de l'organisme opposant une résistance effective à l'envahissement parasitaire ; ils n'ont été observés en effet qu'**in vitro** après traumatisme artificiel de la paroi intestinale des Drosophiles.



## PROPAGATION NATURELLE DES FLAGELLOSES

Les flagelloses intestinales se transmettent d'individu à individu par la voie intestinale et le plus souvent au moyen de kystes. Dans certains cas, par exemple dans le cas des élevages de Drosophiles concentrés sur un petit espace, la contamination d'individu à individu peut se faire par les formes végétatives ordinaires ainsi que l'a montré CHATTON. Dans le cas où l'infection de la cavité générale est normale, comme c'est le cas chez les chenilles d'**Agrotis pronubana** parasitées par **L. chattoni,** on constate que toutes sont parasitées d'autre part par une larve d'Ichneumonide, **Amblyteles armatorius** Först. ; par contre, toutes les chenilles non parasitées sont indemnes de Flagellés. Il existe donc une relation certaine entre la présence du Flagellé parasite et celle de l'Ichneumon. On peut admettre, mais je n'ai malheureusement pas pu en faire la démonstration, que l'Ichneumon infecté inocule le parasite en pondant dans la cavité générale des chenilles et assure ainsi la transmission de la maladie. Le processus d'infestation différerait essentiellement de ceux décrits jusqu'ici ; il différerait des processus d'infestation concernant certains Hématozoaires, en particulier celui du paludisme ; en effet, l'**Amblyteles** ne jouerait que le rôle de vecteur alors que l'**Anopheles** représente pour l'Hématozoaire un hôte de passage indispensable dans l'évolution du parasite.

## DEUXIÈME PARTIE

# LES MYCOSES DES INSECTES

A cause de leur extrême ubiquité et de leur aspect caractéristique, les Champignons entomophytes ont depuis longtemps attiré l'attention des observateurs. Dès l'année 1835, BASSI de Lodi démontrait que la muscardine du Ver à soie était d'origine parasitaire et qu'elle avait pour cause unique un Champignon ou moisissure qui se multiplie dans le corps même du Ver à soie. Cette découverte n'a pas manqué de surprendre les biologistes de l'époque ; AUDOUIN, dans le mémoire qu'il consacra à la muscardine en 1836, s'exprimait ainsi au sujet de la découverte de l'auteur italien : « suivant lui, la muscardine serait due à la naissance d'une petite plante cryptogame ou, en terme vulgaire, d'une **moisissure** qui, se développant à l'intérieur du corps du Ver à soie, ne tarderait pas à le faire périr. Ainsi un animal doué de vie et de vie très active, car c'est au moment où le ver a le plus de vigueur qu'il est souvent atteint, pourrait fournir à la nourriture d'un être végétal. Les deux règnes organiques mis en contact immédiat, il y aurait entre eux (qu'on veuille bien me passer l'expression, parce qu'elle rend compte exactement du fait), il y aurait, dis-je, entre eux, une sorte

de lutte dans laquelle l'être animé se trouverait dominé et bientôt remplacé par celui qui végète.

« Un cas de parasitisme aussi nouveau, et je crois pouvoir ajouter, aussi anormal, méritait bien que les physiologistes songeassent à le constater et je dois dire que cela était d'autant plus nécessaire que M. BASSI, après avoir étudié ce sujet avec une louable persévérance, n'a pas accompagné l'exposition du fait de détails qui, en lui servant d'appui, devaient le mettre hors de doute. »

Le Champignon de BASSI a été décrit par BALSAMO qui lui donna le nom de **Botrytis bassiana.** Le mémoire de BASSI est à l'origine, peut-on dire, de toutes nos connaissances sur la pathogénie des maladies infectieuses des Insectes.

CHAPITRE III

# Les Champignons entomophytes.

Il ne saurait être question ici d'une étude détaillée de toutes les espèces qui ont été signalées comme parasites d'Insectes ; elles sont en effet très nombreuses et une telle étude nécessiterait à elle seule un ouvrage complet. Je ne mentionnerai donc que les plus importantes, en particulier celles que l'on rencontre le plus communément et qui jouent un rôle appréciable dans la destruction naturelle des Insectes.

## Article 1

## LES FUNGI IMPERFECTI

Les espèces les plus pathogènes pour les Insectes appartiennent au groupe des **Fungi imperfecti**, groupe très étendu, très hétérogène, à limites imprécises, dans lequel on a placé toutes les espèces dont on ne connait que la forme de reproduction imparfaite par conidies, c'est-à-dire par spores ne résultant pas d'une conjugaison préalable de deux éléments de sexualité différente. Les conidies naissent directement sur le thalle ou sur des filaments différenciés ; les **Fungi imperfecti** se multiplient également par arthrospores et hémispores ; les arthrospores résultent de la fragmentation de filaments mycéliens et de l'épaississement de la paroi qui ressemble à celle d'un œuf ; les hémispores, par germination, ne donnent pas directement naissance au thalle mais à des conidies secondaires qui prennent le nom de deutéroconidies, les premières étant désignées plus spécialement sous le nom de protoconidies.

Un certain nombre d'espèces ont été déjà détachées à la suite de la découverte des formes parfaites correspondantes, c'est-à-dire de celles qui se multiplient par asques. L'exemple du **Cordyceps militaris** (L.) Link., forme ascosporée de l'**Isaria farinosa** est connu depuis longtemps déjà. Lorsqu'on connaîtra mieux les formes de développement des moisissures rangées dans le groupe des **Fungi imperfecti,** il est à prévoir que beaucoup d'espèces prendront place dans les autres groupes mieux connus des Ascomycètes.

On divise les **Fungi imperfecti** en trois classes : les **Sfæropsidales,** à conidies enfermées dans des organes spéciaux, les pycnides ; les **Mélanconiales,** à conidies naissant sur des filaments libres ; les **Hyphales,** à conidies placées sur des conidiophores différenciés qui peuvent être isoés ou réunis entre eux (formes corémyées). Le groupe de beaucoup le plus important pour le sujet qui nous occupe, est celui des Hyphales, ou Hyphomycètes, dont la classification est la suivante d'après VUILLEMIN (1).

| | | | |
|---|---|---|---|
| A. Fonctions végétative et reproductrice non séparées sur des organes rigoureusement distincts. | Eléments sporiformes ayant d'abord fait partie du thalle et secondairement adaptés à la fonction reproductrice. | *Thallosporés* | Blastopores ou globules bourgeonnants *Blastoporés*<br>Multiplication par fragments de mycélium *Arthrosporés* |
| | Hémispores qui, primitivement distinctes du thalle (protoconidies) continuent à végéter pour se fractionner en deutéroconidies. | *Hémisporés* | |
| B. Spores opposées au thalle dès l'origine. | Conidies vraies | *Conidiosporés* | |

Le groupe des Conidiosporés est celui qui renferme la plupart des Hyphomycètes entomophytes.

(1) Tableau reproduit d'après Beauverie (*Rev. gén. de Botan.*, t. 26, pp. 81-157, 1914.



## LES CONIDIOSPORÉS

D'après VUILLEMIN, « la conidie est l'élément le plus stable qui puisse, à défaut d'asque ou de baside, servir de base à la classification des Champignons à thalle primitivement cloisonné (Hyphomycètes **sensi latiori**) ». Sa forme extérieure et sa structure interne sont en effet constantes pour une même espèce. Comme autres caractères pouvant servir à la classification des Conidiosporés, VUILLEMIN mentionne la coloration, le nombre des conidies qui naissent en un même point à l'extrémité des axes ou des rameaux, leur mode de dispersion.

VUILLEMIN divise les Conidiosporés en quatre ordres :

1° Les **Sporotrichés** qui ne possèdent pas d'appareil conidien différencié ;

2° Les **Sporophorés** dont les conidies sont portées par des filaments différenciés : les sporophores ;

3° Lorsque les sporophores sont en forme de bouteille et qu'ils sont séparés du thalle par une cloison, on a affaire aux **Phialidés** ;

4° Chez les **Prophialidés,** les phialides naissent sur un rameau de forme et de structure spéciales, la prophialide.

La classification en familles repose sur des caractères dominants en nombre suffisant, mais il n'en est pas de même pour la classification en genres ; aussi ne sait-on encore dans quel genre ranger beaucoup d'espèces entomophytes par ailleurs très communes et très connues.

La famille des **Verticilliacées** est riche en espèces entomophytes. Parmi les mieux connues, citons **Beauveria bassiana** agent de la muscardine du Ver à soie que l'on plaçait autrefois dans le genre **Botrytis, Spicaria farinosa, Beauveria globulifera, B. densa.**

Les **Spicaria** (séparés maintenant des Isaria) se distinguent des **Beauvaria** par le mode de naissance des conidies : celles-ci sont disposées en groupe sympodique chez les **Beauveria** ; en chapelets, chez les **Spicaria.** L'examen comparatif des Figures 30 et 31 nous dispensera de longues explications. Chez les uns comme chez les autres, « la végétation, écrit VUILLEMIN, est définie par la formation de la première spore. Les spores qui lui succèdent résultent d'un accroissement intercalaire du col

de la phialide arrêté dans son allongement terminal. Chez les **Spicaria**, elles s'organisent le long de l'axe lui-même ; chez les parasites du Ver à soie (**Beauveria**), elles terminent les ramuscules filiformes nés en progression basipète au-dessous des conidies précédemment formées.

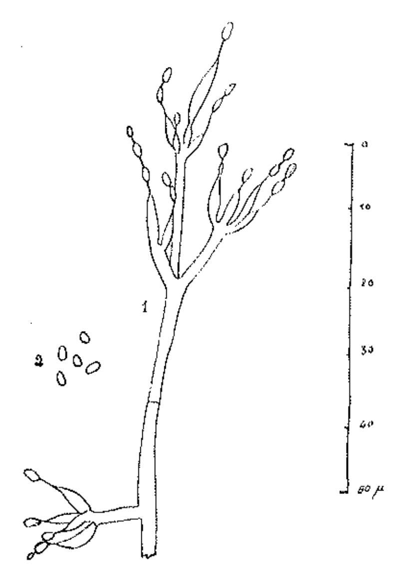


Fig 30. — Conidiophores et conidies de **Spicaria farinosa, var. verticilloïdes** (d'après Fron).

Dans le genre **Beauveria** ont été placées les quatre espèces suivantes extrêmement communes : **bassiana, effusa, densa** et **globulifera** que l'on distingue les unes des autres par la forme des conidies, la coloration du substratum dans les cultures sur gélatine ou pomme de terre, l'aspect crayeux ou floconneux du mycélium.

Le développement des Hyphales n'offre rien de particulier : les conidies placées sur un milieu favorable et dans des conditions d'humidité suffisantes, germent et donnent naissance aux filaments mycéliens du thalle ; après quelques jours, sur milieu artificiel, ou après la mort de l'hôte, en milieu vivant, les conidiophores se différencient du thalle et une

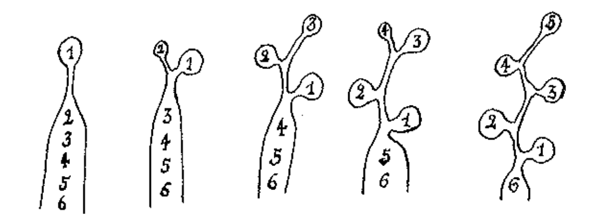


Fig 31. — Schéma montrant le mode de formation sympodique des conidies de **Beauveria bassiana** (d'après Vuillemin)

nouvelle génération de conidies apparaît. La plupart des espèces peuvent vivre en saprophytes sur les matières organiques.

Deux espèces de Spæropsidales doivent être signalées comme particulièrement importantes au point de vue de la destruction naturelle



des Aleurodes : **Aschersonia aleyrodis**, Weber (« The red fungus » des Américains) et **Asch. flavo-citrina**, Patterson (« The yellow fungus ») ; les deux espèces se différencient l'une de l'autre par la couleur des con-

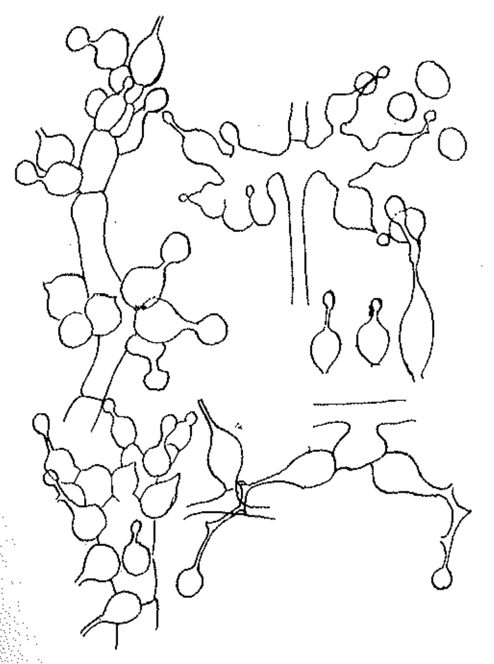


Fig. 32. — Phialides ventrues de **Beauveria bassiana** (d'après Vuillemin).

ceptacles renfermant les conidies ; elles ont été bien étudiées par Morrill et Back qui les ont utilisées comme auxiliaires dans la lutte contre **Aleyrodes citri** en Floride. Une autre espèce a été étudiée par ces mêmes auteurs : **Ægerita webberi**, Fawcett.

Article 2

## LES ASCOMYCÈTES

Les Ascomycètes se reproduisent par œufs qui résultent de l'anastomose de deux filaments ou de la fusion d'un anthérozoïde libre et d'un élément femelle fixe ou archégone (Laboulbéniacées). La plupart des espèces entomophytes sont groupées dans trois familles : celle des

Sphériacées à périthèce clos déhiscent ; celle des Périsporiacées à périthèce indéhiscent et celle des Laboulbéniacées. Les Levures, qu'on rencontre souvent dans le contenu intestinal des Insectes, ne peuvent être considérées comme des espèces pathogènes pour les Insectes; elles appartiennent à la famille des Erémascacées.

## LES SPHÉRIACÉES

Les espèces entomophytes les plus communes appartiennent à la tribu des Nectriées et à celle des Sphériées.

**Nectriées.** — Les Champignons de ce groupe ont un thalle en forme de sclérote allongé en cordon et portant des ramifications dressées à la surface desquelles s'ouvrent les périthèces. Les **Cordyceps** qui font partie de cette tribu, sont connus depuis longtemps comme parasites des Insectes. **Cordyceps militaris,** bien étudié par Tulasne, se rencontre assez fréquemment en automne sur chenilles ou chrysalides momifiées. Du corps de la chenille émergent des stipes plus ou moins renflés vers le sommet et de couleur orange ou pourpre ; la partie renflée porte les périthèces de très petite taille à l'intérieur desquels se forment les asques allongés.

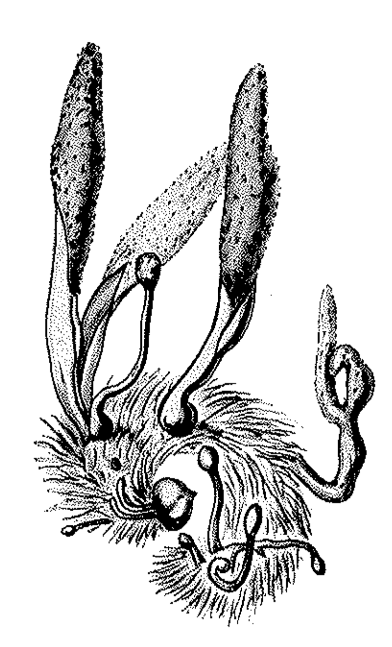


**Fig. 33. — Cordiceps militaris** Fr. sur une chenille de **Macrothylacia rubi** (d'après Tulasne).

La forme conidienne du **C. militaris** est extrêmement répandue ; c'est l'**Isaria** (= **Spicaria**) **farinosa** qui parasite un très grand nombre d'Insectes de tous genres. Les filaments aériens qui portent les conidies à leur extrémité sont souvent groupés en cordons qui s'épanouissent pour donner naissance à des sortes de réceptacles simulant des organes fructifères différenciés. Ces formes, qu'on peut observer fréquemment chez les chrysalides hivernantes



de Cochylis et Eudémis momifiées, sont dites corémyées. On les observe aussi sur cultures en milieu artificiel.

Un autre **Cordyceps**, trouvé par Olsen Sopp en Norvège sur des chenilles de **Gastropacha pini** et décrit par lui sous le nom de **C. norvegica,** offre cette particularité intéressante d'être cultivable sur milieu artificiel à base de colostrum ; en partant des périthèces, Sopp a pu obtenir la forme conidienne correspondante et inversement, en partant des conidies, la forme ascosporée. La forme conidienne se rapproche des **Penicillium** ; le mycelium est blanc et formé de longs filaments peu ramifiés.



**Fig. 34.** — Chenille de **Macrothylacia rubi** portant la forme conidienne du **Cordiceps militaris** (**Spicaria farinosa**) (d'après Tulasne).

Les chenilles infectées étant placées en flacon d'Erlenmayer avec du sérum donnent, trois semaines après, la forme ascosporée dont on distingue nettement les périthèces en forme de bouteille remplis d'asques allongés donnant naissance à de longues spores cylindriques.

On connaît un assez grand nombre d'autres espèces de **Cordyceps** entomophytes ; la plupart d'entre elles ont été rencontrées dans les régions tropicales. On trouvera dans le mémoire de Picard sur les Champignons parasites des Insectes, des renseignements intéressants sur les espèces les mieux connues.



**Fig. 35.** — Chrysalide de Cochylis parasitée par **Spicaria farinosa** var. **verticilloides**; forme corémyée émergeant du cocon.

**Sphériées.** — La tribu des Sphériées se distingue des Nectriées par les périthèces qui naissent directement sur les filaments du thalle. Elle renferme quelques parasites entomophytes intéressants parmi lesquels on peut citer les **Sphaerostilbe** et leurs formes conidiennes correspondantes (**Microcera**) dont beaucoup d'espèces sont parasites des Cochenilles. Selon Picard, **Sphaerostilbe coccophila,** Tulasne, est une des plus communes et des plus répandues ; elle est caractérisée par la couleur rouge des périthèces et leur forme presque sphérique ; ils sont groupés

par 4 ou 5. Le Champignon a été rencontré dans le monde entier. « Il a d'abord été rencontré en Europe, dit PICARD, sur divers Coccides, mais son rôle et sa grande importance pour la destruction des Cochenilles ont été surtout mis en évidence en Amérique, en particulier par ROLFS en 1897. Il constitue dans ce pays un des principaux freins à la multiplication du Pou de San-José (**Aspidiotus perniciosus**), mais il attaque aussi en Floride, les **Mytilaspis** des Aurentiacées (**M. gloveri** et **citricola**). Il est probable qu'il peut parasiter la plupart des Coccides de la tribu des Diaspines, car on l'a observé sur **Chrysomphalus aonidium, Aonidiella aurantii, Fiorina fiorinæ, Chionaspis citri, Parlatoria pergandi,** etc... C'est le « **red-headed fungus** » (Champignon à tête rouge) des américains, et c'est, avec un autre Ascomycète, le « **white-headed fungus** » (**Ophionectria coccicola**), le plus grand destructeur de Cochenilles de la Dominique, en particulier des **Lepidosaphes.** Enfin le **Sphaerostilbe** existe aussi au Japon et y vit aux dépens du **Diaspis pentagona**, Cochenille introduite actuellement en Italie où elle se montre nuisible au Mûrier et à d'autres végétaux ».

La forme **Microcera** est étroitement associée à la forme ascosporée. Parmi les autres espèces de Microcera signalées comme parasites de Cochenilles, citons **M. parlatoriæ** à spores falciformes, observée par TRABUT en Algérie sur une Cochenille de l'Oranger : **Parlatoria Zizyphi.**

## LES PÉRISPORIACÉES

La famille des Périsporiacées, caractérisée par son périthèce complètement clos, est surtout connue par ses espèces saprophytes, en particulier : les Truffes et les Aspergillus ; elle renferme aussi quelques espèces très pathogènes pour les Insectes.

Les **Aspergillus** ont été décrits parfois comme parasites d'Insectes, mais il semble bien que, dans la plupart des cas, la moisissure observée sur le corps des Insectes morts s'était développée postérieurement à l'action d'autres causes morbides.

METCHNIKOFF a étudié en Russie, d'abord sous le nom d'**Entomophthora anisopliæ**, puis sous celui d'**Isaria destructor,** une muscardine causant une mortalité très importante parmi les larves du Hanneton du blé (**Anisoplia austriaca**). L'espèce a été rattachée depuis au genre **Penicillium** par VUILLEMIN, puis au genre **Metarhyzium.**



Une autre Périsporiacée découverte par KRASSILSTSCHICK en Russie sur les larves de **Cleonus punctiventris,** parasite de la Betterave à sucre, a fait l'objet d'études assez approfondies en vue de l'utilisation comme auxiliaire dans la lutte contre ce parasite. KRASSILSTSCHICK lui donna le nom de **Tarichium uvella.** SOROKIN étudia par la suite un Champignon très voisin, sinon identique, sur les chenilles d'**Agrotis segetum** et lui donna le nom de **Sorosporella agrotidis,** mais les deux espèces n'en formeraient qu'une seule en réalité d'après GIARD ; c'est également l'opinion de SPEARE qui publia en 1920 une étude assez complète sur le Champignon désigné finalement sous le nom de **Sorosporella uvella.** Les chenilles de Noctuelle infectées ne présentent aucun signe externe de maladie fongique, le thalle ne se développant pas à l'extérieur du corps, mais en ouvrant celui-ci, qui reste mou après la mort, on constate l'existence d'une masse interne de couleur rouge brique, d'aspect pulvérulent, constituée par les spores sphériques ou subsphériques du Champignon parasite. Ces spores, en germant dans l'eau, donnent naissance à des filaments mycéliens qui produisent ensuite des conidiophores dont le développement et la structure sont semblables à ceux des **Verticillium.** D'après SPEARE, ce serait donc dans ce groupe des Hyphales qu'il devrait être placé en attendant la découverte de la forme ascosporée.

## LES LABOULBÉNIACÉES

Les Laboulbéniacées se rencontrent uniquement chez les Insectes et les Acariens ; c'est un groupe important par le nombre des genres et des espèces, mais son étude n'offre que peu d'intérêt pour le sujet qui nous occupe, aucune des espèces connues ne jouant un rôle actif dans la destruction naturelle des Insectes. Les Laboulbéniacées ont été bien étudiées par Picard qui a décrit plusieurs genres et espèces nouveaux. « Elles sont formées, dit cet auteur, d'un thalle ou réceptacle quelquefois composé d'un petit nombre de cellules, fixé sur le tégument de l'hôte par une cellule basale noire appelée pied. Le réceptacle porte les organes femelles ou périthèces et les filaments ou appendices, les uns stériles, les autres donnant naissance aux organes mâles ou anthérozoïdes ». Les deux sortes d'organes sont représentées dans la figure 36 reproduite d'après PICARD. Les ascospores sont généralement bicellulai-

res : une des cellules, la basale, se fixe sur la chitine de l'Insecte ; l'autre donne naissance à l'appareil végétatif puis aux organes reproducteurs.

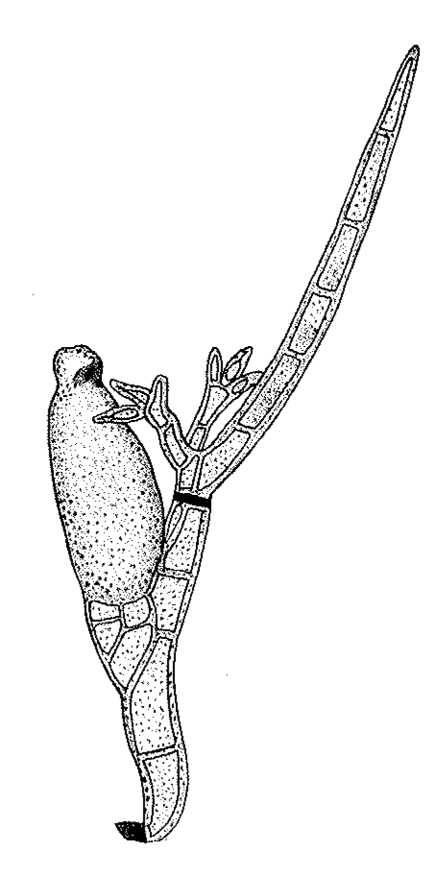


**Fig. 36. — Laboulbenia polystichi** Pic., parasite de **Polystichus connexus**; périthèce et anthéridies (d'après Picard).

Les Laboulbéniacées sont caractérisées par leur grande spécificité parasitaire ; elles ne se développent que sur Insectes vivants et adultes. Un certain nombre d'espèces sont caractérisées par la présence d'un pied différencié en suçoir plus ou moins ramifié, le rhizoïde, qui pénètre dans les tissus de l'hôte.



## Article 3
## LES SYPHOMYCÈTES

L'ordre des Syphomycètes se distingue des Ascomycètes, Basidiomycètes et **Fungi imperfecti** par le thalle non cloisonné en cellules et des Myxomycètes, par la présence d'une membrane cellulosique donnant une forme définie aux filaments du thalle ; ils se reproduisent par œufs.

La famille des Entomophthoracées groupe la plupart des espèces parasites d'Insectes.

### LES ENTOMOPHTHORACÉES

Le thalle se développe à l'intérieur du corps des Insectes et donne naissance à plusieurs sortes de fructifications : conidies, chlamydospores et zygospores ou œufs ; les deux dernières fructifications, qui se forment seulement à l'intérieur du corps de l'Insecte, constituent les spores de résistance. Les conidies, non pourvues d'une épaisse membrane protectrice, se forment à l'extrémité de filaments dressés externes; elles sont projetées généralement à une certaine distance du corps de l'Insecte, germent sur place en donnant naissance à des conidies secondaires et mêmes tertiaires et forment ainsi autour du cadavre une auréole blanchâtre plus ou moins étendue. Ces auréoles sont bien visibles en automne autour des Mouches qui restent fixées sur les vitres après infection par l'**Empusa muscæ** (fig. 37). Les Entomophthoracées se divisent en deux tribus qui se distinguent l'une de l'autre par l'appareil conidien. Dans la tribu des **Empusées,** les filaments qui portent les conidies sont simples; dans celle des **Entomophthorées,** ils sont plus ou moins ramifiés.

**Les Empusées.** — Elles jouent un rôle très important dans la destruction naturelle de certaines espèces d'Insectes comme par exemple les Mouches domestiques et les Criquets. Comme l'a constaté PICARD, les Insectes parasités se reconnaissent assez facilement à leur tendance à grimper au sommet de supports divers. C'est ainsi que la fin des invasions sporadiques de Criquet italien (**Caloptenus italicus**), dans nos ré-

gions tempérées du Sud-Est, est marquée généralement par une mortalité énorme dont la cause doit être attribuée avant tout à une Empusée : **Empusa grylli** (Fres.) Nowak. ; les Insectes tués par le parasite forment de véritables bouquets au sommet des tiges herbacées sèches (fig. 38). D'après PICARD, on observe des amas de cadavres en général

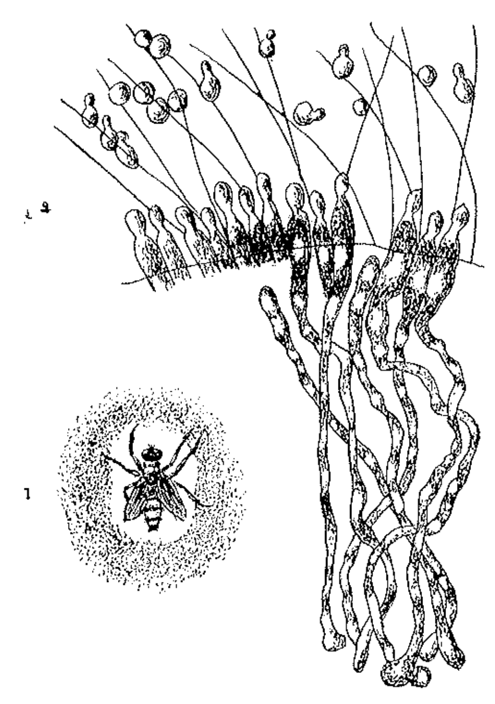



Fig. 37. — 1. Mouche parasitée par **Entomophthora muscæ**, Cohn (les spores projetées à une certaine distance du cadavre, forment une auréole autour de celui-ci). 2. Mycélium et conidiophores (d'après Brefeld).

au début de l'automne quand l'humidité est suffisante ; mais dans la région lyonnaise, l'observation peut être faite beaucoup plus tôt, le plus souvent, dès le début de l'été.

Une autre espèce d'**Empusa** très voisine d'**E. grylli** parasite les chenilles de Macrolépidoptères appartenant au groupe des Arctides (**Empusa aulicæ**) ; c'est, d'après Picard, « le parasite le plus meurtrier de l'Ecaille martre ou chenille bourrue des vignerons (**Arctia caja** L.) ». Les chenilles parasitées se rencontrent parfois en très grand nombre dans les vignes, accrochées vers le sommet des sarments.



SPEARE et COLLEY ont utilisé l'**Empusa aulicæ** pour infecter artificiellement les chenilles d'**Euproctis chrysorrhœa** ; le parasite avait été importé d'Europe en Amérique par THAXTER en 1888.

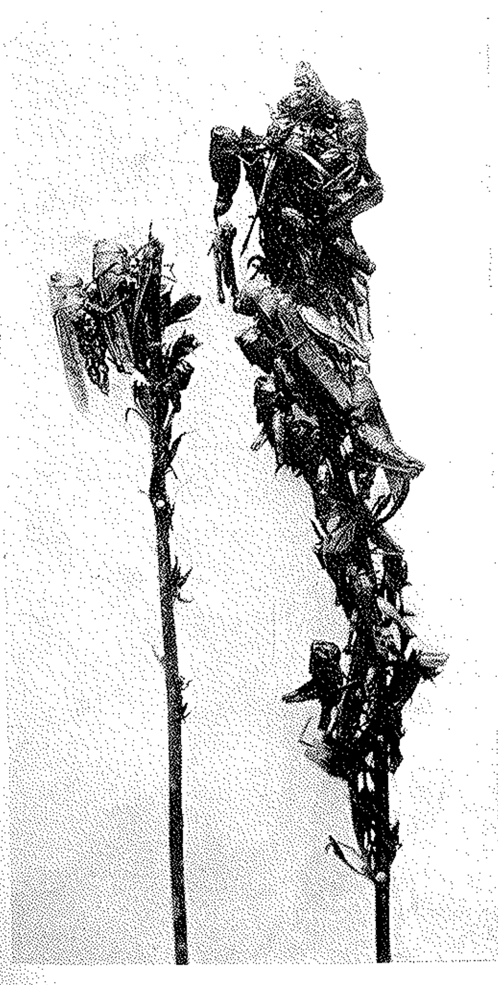


Fig. 38. — Amas de Criquets italiens parasités par **Empusa grylli**.

**Les Entomophthorées.** — L'espèce qui parasite habituellement les chenilles de **Pieris brassicæ** (**Entomophthora sphaerosperma**, Fres. (= **radicans**, Brefeld) est connue depuis longtemps ; le développement

du parasite a été bien étudié par BREFELD : après la mort des chenilles parasitées, le corps se recouvre d'un feutrage blanc-grisâtre constitué par les conidiophores très ramifiés. Des cloisons séparent du thalle les dernières ramifications qui portent les conidies à leur extrémité ; celles-ci sont de forme allongée (fig. 39) ; lorsqu'elles ont atteint l'état de maturité, elles sont projetées tout autour du corps de la chenille. Toutes les chenilles parasitées ne se recouvrent pas d'un feutrage ; une certain nombre se ratatinent ; il se forme à l'intérieur des azygospores qui naissent directement sur les filaments fragmentés comme l'indique la figure 40.

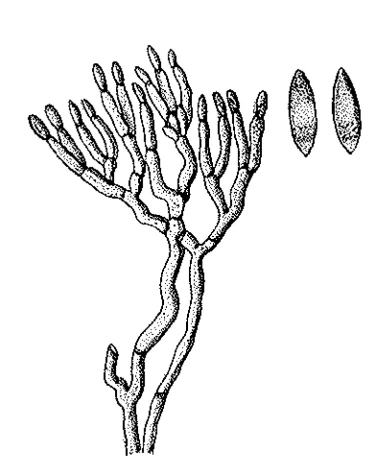
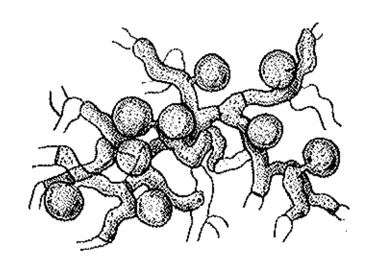


Fig. 39. — **Entomophthora sphaerosperma** Fres (**radicans** Bref.) parasite de chenille de **Pieris brassicae.** Hyphes fructifères et spores. Gross.: 300 et 650 (d'après Brefeld).

Certains genres d'Entomophthoracées très pathogènes pour les Insectes sont connus seulement par une de leur forme de développement. Ainsi les **Tarichium** dont une espèce (**Tarichium megaspermum,** Cohn) parasite communément les chenilles d'**Agrotis segetum,** ne sont pas



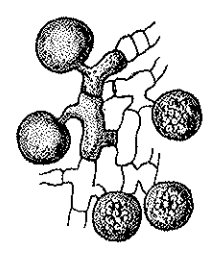


Fig. 40. — Formation des spores durables sur mycélium d'**Entomophthora radicans.** Gross.: 300 et 350 (d'après Brefeld).

connus sous leur forme conidienne. Le champignon forme à l'intérieur du corps une masse noire ressemblant à de l'amadou, d'où le nom de « muscardine noire » sous lequel on désigne la maladie causée par le **Tarichium.** Cette masse renferme les spores dont la membrane est



épaisse et de couleur brune. D'après PICARD, beaucoup d'espèces de **Tarichium** devraient probablement rentrer dans le genre **Empusa.**

Pendant longtemps, on a considéré la culture des Entomophthoracées sur milieu artificiel comme impossible. C'est en 1912 que HESSE a réussi pour la première fois cette culture. BUCHANAM, l'année suivante, confirmait cette découverte et montrait que le Champignon ne se développe pas lorsqu'il résulte d'une abondante germination de conidies, et qu'il est formé d'hyphes caractéristiques de longueur considérable. L'auteur recommande comme milieu l'agar glucosé et l'agar avec faible pourcentage de graisse.

---

CHAPITRE IV

# Pathogénie des mycoses.

## PÉNÉTRATION DES PARASITES DANS L'ORGANISME

Les Insectes s'infectent généralement par les téguments ; les spores transportées mécaniquement se fixent sur la peau et germent lorsque les conditions ambiantes deviennent favorables ; les filaments mycéliens issus de la spore pénètrent aussitôt dans la couche cuticulaire chitineuse et cheminent à travers cette couche en digérant la chitine tout le long de leur trajet.

Les processus d'infestation du Ver à soie par le **Beauveria bassiana** sont connus depuis longtemps. Si l'on contamine artificiellement des Vers à soie en les badigeonnant avec une émulsion de conidies de culture pure sur gélose sucrée ou sur pomme de terre, qu'on les examine à intervalles réguliers à partir du début de la contamination après les avoir soumis aux différentes opérations que nécessite l'étude histologique, on constate que les filaments mycéliens issus des conidies forment dans la couche chitineuse des trajets plus ou moins sinueux ; la digestion de la chitine est rendue évidente par l'existence d'un halo clair tout autour du filament. La digestion de la chitine serait due, d'après CONTE et LEVRAT, à l'action d'une diastase qui semble devoir être identifiée avec celle qui agit sur la soie et que les deux auteurs ont isolée en faisant macérer les champignons de culture dans la glycérine, puis en précipitant par l'alcool. Déjà, en 1892, GIARD avait émis une hypothèse semblable : « Je pense, disait-il, sans pouvoir encore

le démontrer d'une façon certaine, que les hyphes des **Isaria** sécrètent à leur extrémité un liquide altérant la chitine, de même que les hyphes de certains **Botrytis** produisent, dans certaines conditions, une enzyme capable de dissoudre la paroi des cellules végétales ». Le même auteur montrait que la pénétration des Champignons dans les tissus de la larve est due à une action chimiotactique exercée par le sang, cette action chimiotactique étant elle-même due à la présence d'un acide dissout dans le sang.

En étudiant une muscardine du Ver à soie causée par **Penicillium** (= **Metarrhizium**) **anisopliæ**, GLASER a montré de même que les filaments mycéliens issus des conidies déposées à la surface du corps pénètrent et cheminent dans la couche cuticulaire chitineuse.

C'est à des conclusions identiques qu'ont abouti M. ARNAUD étudiant la contamination artificielle de chenilles de **Pieris brassicæ** avec spores de **B. bassiana** ; SPEARE, celle de chenilles de Noctuelles avec spores de **Sorosporella uvella**; METALNIKOFF et TOUMANOF, celle des chenilles de **Pyrausta nubilalis** avec spores d'**Aspergillus flavus, B. bassiana, Spicaria farinosa, Sterigmatocystis nigra.**

Le cas des Entomophthoracées semble différent de celui des Verticilliacées ; d'après les expériences faites par ROUBAUD pour contaminer artificiellement **Stomoxys calcitrans** L., **Musca domestica** et différentes espèces de Glossines, il semble que l'infection se produit généralement par la voie intestinale. Les expériences de HESSE aboutissent aux mêmes conclusions. Ce dernier auteur a réussi d'autre part à infester artificiellement des Mouches en leur faisant absorber de l'eau sucrée renfermant des zygospores d'**Empusa muscæ** ; les spores germent en donnant naissance à un mycélium conidifère.

## INFLUENCE DES AGENTS EXTERNES

La pénétration et la multiplication des Champignons entomophytes dans l'organisme des Insectes vivants sont soumises à l'influence directe ou indirecte de facteurs intrinsèques et extrinsèques dont beaucoup sont encore inconnus, surtout parmi les premiers. Les facteurs extrinsèques ou externes jouent un rôle prépondérant dans la conservation du pouvoir germinatif des spores, dans leur dissémination et dans leur germination.



Les expériences de M. ARNAUD avec **B. bassiana** et **B. densa** ont montré que la culture sur milieu artificiel présentait un maximum de développement à la température de 27°5 C, les limites extrêmes de culture étant comprises entre +6° et 44° C. Pour **Spicaria farinosa** var. **verticilloides**, VOUKASSOVITCH a montré que la température optimum de développement est de 24° C et que le Champignon peut pousser jusqu'à une température voisine de 0° ; les spores ne peuvent germer au-delà de 35° C.

GEE WILSON et BALLARD-MASSEE, étudiant l'action pathogène d'une espèce normalement saprophyte, l'**Aspergillus flavescens** Eidam, sur chenilles de **Malacosoma americana**, ont montré que le Champignon ne devient pathogène pour celles-ci que si la température ambiante est portée à 37° C.

L'état hygrométrique de l'air joue un rôle prépondérant dans la germination des spores. En général, plus le degré hygrométrique est élevé, autrement dit, plus l'air est humide, mieux le Champignon se développe. Dans le cas de **Sp. farinosa** étudié par VOUKASSOVITCH, la germination des conidies se réalise dans les meilleures conditions dans un milieu saturé d'humidité. La fructification peut être rendue très active dans un milieu saturé d'humidité et en présence de l'eau ; c'est ainsi que des chenilles ou des chrysalides momifiées se couvrent très rapidement de filaments conidifères lorsqu'on les met en contact direct avec de l'eau.

L'humidité est un facteur défavorable pour la conservation du pouvoir germinatif des spores ; en milieu sec, celles-ci conservent très longtemps leur vitalité ; ainsi LAMBERT a montré que les conidies de **B. bassiana** conservées à l'air sec ne perdaient leur pouvoir germinatif qu'au bout de trois ans environ. Toutefois lorsque la température ambiante est relativement élevée, la durée de conservation du pouvoir germinatif peut être considérablement réduite. Ainsi, d'après VOUKASSOVITCH, la faculté germinative des spores de **Spicaria farinosa** ne persiste pas au-delà de 50 jours environ, à une température moyenne de 30-31° C en milieu sec. L'influence des facteurs humidité et température suffit à expliquer les variations d'intensité des épidémies de muscardine qu'on observe dans la nature d'une année à l'autre. « Dans le cas d'une année humide, écrit VOUKASSOVITCH, la fructification étant commencée au printemps, les spores continueront à se former jusqu'à

complet épuisement des matières nutritives de la chrysalide. Une partie de ces spores sera disséminée et périra ; l'autre qui restera sous les écorces, germera en partie à son tour ou perdra son pouvoir germinatif. Cet épuisement devrait avoir lieu en trois ou quatre mois, d'après les expériences faites au laboratoire avec les chrysalides artificiellement contaminées et laissées dans un milieu complètement saturé d'humidité.

« Dans le cas d'une année sèche, la sporulation au printemps sera arrêtée avant l'épuisement des réserves nutritives. Les dernières spores formées et restées sous les écorces, n'étant pas dans un milieu suffisamment humide pour germer mais étant à l'abri, pourront conserver intact leur pouvoir germinatif. De plus, les réserves nutritives non épuisées pourront donner à l'automne, avec la première humidité, de nouvelles spores pleines de vitalité. En résumé, l'automne et l'hiver humides, le printemps et l'été secs, semblent réunir les meilleures conditions pour favoriser l'action du Champignon. »

L'humidité est également nécessaire à la multiplication des Entomophthoracées ; on sait que les épidémies à **Empusa** sont particulièrement meurtrières au début de l'automne quand l'humidité est suffisante (Picard). L'humidité est encore plus indispensable au développement des Laboulbéniacées qu'on ne rencontre guère, en effet, que sur les Insectes aquatiques ou vivant en milieu très humide. Il semble d'autre part, comme l'a constaté Picard, que la présence de sel marin favorise la multiplication des Champignons ; c'est ce qui expliquerait la fréquence relativement grande des Laboulbéniacées sur les Insectes qui vivent au bord de la mer ou des étangs salés.

## ETUDE DE LA VIRULENCE ET DU MODE D'ACTION PARASITAIRE

Les Champignons entomophytes ne tuent pas les Insectes par l'intermédiaire de toxines ; la mort ne survient en général qu'après infiltration des différents tissus par les filaments mycéliens. Certaines espèces cependant, comme **Fusarium (Lachnidium) acridiorum** envahissent les trachées et déterminent la mort par asphyxie.

Picard admet que la virulence des Champignons pour une espèce d'Insecte déterminée varie comme celle des Bactéries ; on peut l'atténuer par repiquages successifs sur milieu artificiel ou la renforcer par



passages à travers l'organisme vivant. Ce n'est pas ce qui résulte des expériences de M. Arnaud : cet auteur a constaté en effet que la culture d'une même souche de **B. bassiana** pendant plus de deux ans sur milieu de culture artificiel, avec de nombreux repiquages, n'a pas paru modifier la virulence de ce Champignon à l'égard des Insectes. Voukassovitch, en étudiant de même l'effet de la culture en milieu artificiel sur le pouvoir pathogène de Champignons entomophytes, a montré que « la virulence des spores de **Sp. farinosa** var. **verticilloïdes** vis à vis des mêmes hôtes (Pyrale de la vigne et Eudémis) fut très peu influencée par la culture du Champignon sur deux milieux artificiels (G.S.P. ou milieu à base de peptone, glucose, saccharose et gélose et pomme de terre), durant un temps assez long (15 mois) et nullement influencée par cinq repiquages successifs durant deux mois sur le milieu minéral ».

CHAPITRE V

# Anatomie pathologique des mycoses.

Les lésions histo- et cytopathologiques causées par le développement des Champignons dans l'organisme vivant des Insectes n'offre rien de caractéristique ; les lésions ne deviennent apparentes que lorsque le mycélium a déjà envahi complètement le milieu sanguin.

Chez le Ver à soie, au début de l'infection par **B. bassiana**, on peut observer des altérations assez profondes des cellules hypodermiques dans la région de pénétration des filaments mycéliens ; ces lésions sont surtout bien marquées chez les vers en mue. J'ai représenté dans la figure 41 les lésions observées dans la couche hypodermique contiguë de cette zone ; on voit que l'hypoderme ne présente pas de solution de continuité et que les noyaux sont normaux ; mais dans la partie distale des cellules, c'est-à-dire au voisinage de la nouvelle cuticule en formation, on observe d'énormes vacuoles. D'autre part, cette nouvelle cuticule est à peine teintée en rose dans sa bordure externe, après coloration par la fuchsine acide, alors que dans les parties normales de l'épiderme, elle est denticulée et fuchsinophile sur une certaine épaisseur.

La pénétration du Champignon dans la cavité générale donne lieu à des réactions inflammatoires qui présentent beaucoup d'analogie avec celles qu'on observe chez les Vertébrés. Chez le Ver à soie atteint de muscardine, on constate par exemple, au point où les filaments

mycéliens débouchent de la couche cuticulaire, une accumulation de cellules sanguines dont beaucoup sont pénétrées par le Champignon et présentent des signes de dégénérescence (pycnose du noyau, phénomène de chromatolyse). L'afflux des amibocytes dans la zone de pénétration des Champignons parasites a été observée depuis longtemps, notamment par GIARD chez les larves de Hanneton parasitées par **Beauveria densa** ; DE BARY, sur larves parasitées par **Spicaria farinosa** ; PICARD, sur chenilles de la Teigne de pommes de terre (**Phthorimaea operculella,** Zell.) parasitées par **Beauveria globulifera.**

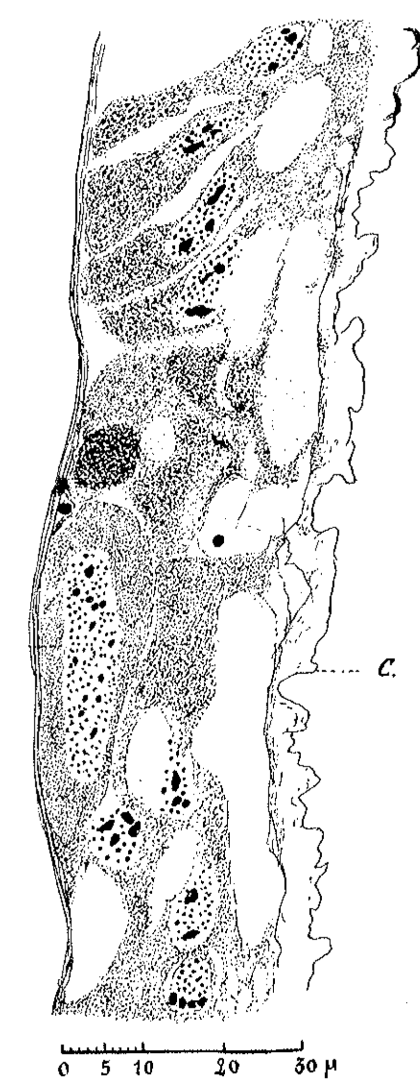



Fig. 41. — Coupe à travers l'hypoderme d'un ver à soie en mue atteint de muscardine ; région avoisinant la zone de pénétration du Champignon dans l'organisme. Fixation au Duboscq-Brasil ; coloration à l'hématoxyline ferrique.

Le mycélium qui se développe dans le sang a tendance à se fragmenter et à donner naissance à des éléments ovoïdes plus ou moins allongés ; c'est là, pour PICARD, un phénomène très général qu'on observe, non seulement chez les Insectes, mais également chez les Vertébrés (mycoses à **Sporotrichum beurmanni**). Les formes mycéliennes courtes ont été observées par GIARD, chez les larves de Hanneton ; par DIEUZEIDE chez les Vers à soie atteints de muscardine à **B. effusa** (arthrospores). PICARD, chez les chenilles de la Teigne des pommes de terre parasitées par **B. globulifera,** a montré qu'il existe



entre les formes courtes du début ou « conidies initiales » et les cellules sclérotiales, un stade intermédiaire représenté par des filaments allon-

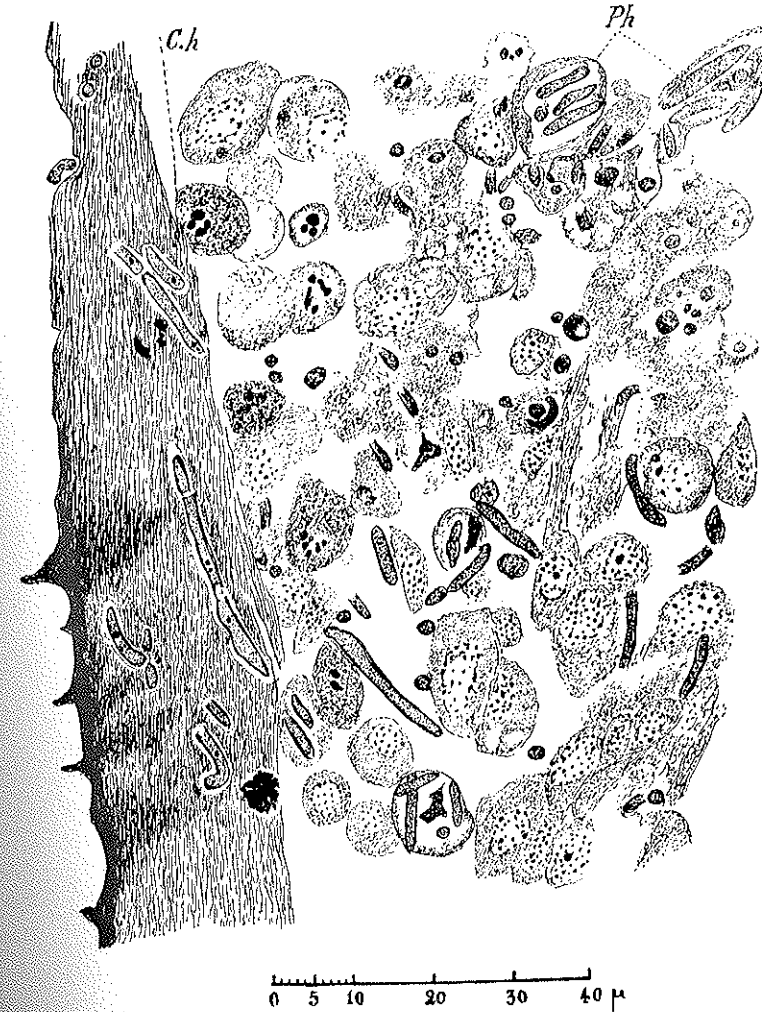



Fig. 42. — Coupe à travers la paroi externe d'un Ver à soie atteint de muscardine (3 jours après le début de la contamination). Fixation au Duboscq-Brasil; coloration à l'hématoxyline ferrique.

gés que l'on rencontre tout d'abord dans la région périphérique où ils forment des amas sous la cuticule, puis de plus en plus profondément. Le même auteur a montré que les différents tissus n'étaient envahis qu'au moment de la formation du sclérote.

Speare, étudiant le développement de **Sorosporella uvella** dans le sang des chenilles de Noctuelles, a observé que le mycélium donnait d'abord naissance à des formes levures (« blastocysts ») qui s'arrondissent ensuite au moment de la formation des spores de résistance.




Fig. 43. — Frottis de sang de Ver à soie 7 jours après la contamination par **Beauveria effusa** (d'après Dieuzeide).

Chez les Vers à soie muscardinés, j'ai montré que les filaments mycéliens pénétraient tout d'abord dans l'épithélium intestinal après s'être multipliés dans le sang ; cette pénétration se fait suivant le même processus que dans la couche chitineuse ; on observe en particulier, tout autour des filaments intracellulaires, l'auréole claire qui correspond à la partie de la cellule en voie de digestion sous l'influence de la diastase sécrétée par le Champignon.



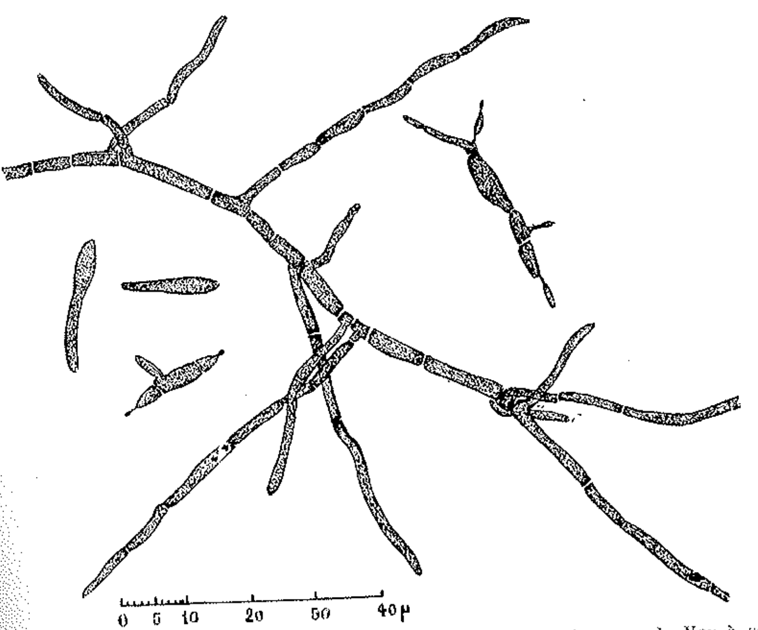



Fig. 44. — Filaments mycéliens de **Beauveria bassiana** dans le sang de Ver à soie. Frottis coloré au Giemsa.

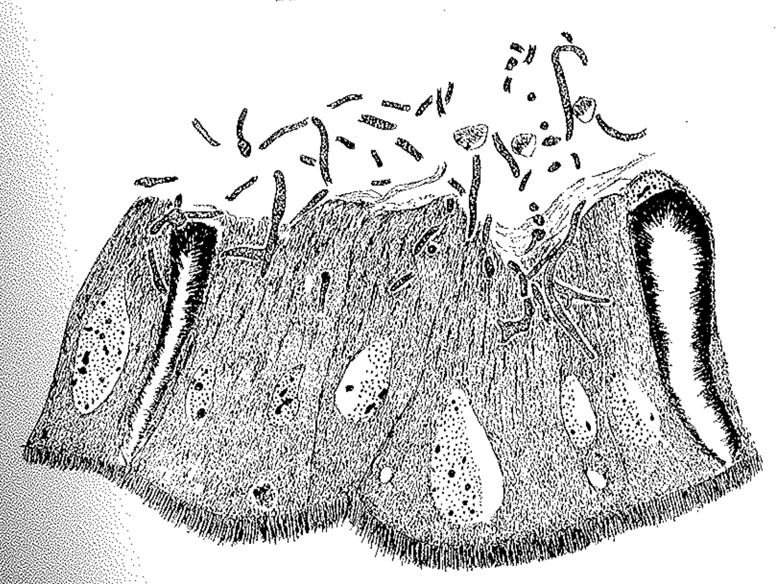


Fig. 45. — Coupe longitudinale à travers la paroi du tube digestif d'un Ver à soie en état de muscardine avancée. Fixation au Duboscq-Brasil ; coloration à l'hématoxyline ferrique.

Beaucoup de faits restent encore à mettre en évidence dans l'étude de l'anatomie pathologique des mycoses d'Insectes ; le sujet n'a été en effet qu'effleuré jusqu'ici et n'a donné lieu qu'à des observations fragmentaires. Souhaitons qu'une telle lacune et tant d'autres encore que nous aurons à signaler dans la suite de cet ouvrage, soit rapidement comblée.

---

CHAPITRE VI

# Etude des réactions d'immunité.

Nous avons vu que beaucoup de Champignons entomophytes pénètrent dans la cavité générale des Insectes à travers la couche chitineuse qui limite extérieurement le corps ; cette couche ne semble donc pas constituer une barrière efficace contre l'envahissement du parasite. L'épithélium intestinal, dans le cas des infections à Entomophthoracées, ne joue également qu'un rôle de défense très insuffisant.

Doit-on considérer l'afflux des amibocytes dans la zone de pénétration des Champignons dans la cavité générale comme une véritable réaction d'immunité ? Ce n'est pas mon opinion. En effet, dans le cas des Vers à soie parasités par **B. bassiana,** nous avons vu que les filaments mycéliens se développaient normalement dans les cellules sanguines et les détruisaient ; on ne saurait donc assimiler la pénétration du Champignon dans les cellules à une réaction phagocytaire, réaction qui, en principe, doit concourir activement à la défense de l'organisme contre les infections microbiennes.

Des réactions phagocytaires ont été observées par SPEARE dans le sang de chenilles de Noctuelles parasitées par **Sorosporella uvella** ; quand le nombre des blastocytes phagocytés est élevé, la cellule devient anormale et succombe sous l'action du Champignon. La phagocytose résulte, suivant SPEARE, d'un englobement des blastocytes au moyen de pseudopodes ; d'après le même auteur, la théorie de WRIGHT sur le rôle des opsonines serait applicable aux chenilles d'**Agrotis** infectées par le **Sorosporella,** autrement dit, il existerait dans le sang une substance qui non seulement rend phagocytables les blastocytes, mais peut exercer égale-

ment une action chimiotactique sur les leucocytes. Nous reviendrons plus longuement sur cette théorie en étudiant les réactions d'immunité antibactérienne. L'attraction des phagocytes entre eux a pour effet la formation d'amas cellulaires plus ou moins volumineux en forme de kystes. Ces amas phagocytaires peuvent être observés fréquemment dans les infections bactériennes ; nous en citerons de nombreux exemples en étudiant ces infections.

Des phénomènes de phagocytose ont été observés également par GLASER dans le sang des Vers à soie infectés par **Metarrhizium anisopliæ**. Comme SPEARE, il a constaté la présence dans le sang d'amas volumineux de phagocytes rassemblés autour et entre les filaments mycéliens ; mais les phagocytes, malgré leur action défensive indéniable, sont incapables de s'opposer à l'infection.

DIEUZEIDE, en étudiant l'action pathogène de **B. effusa** sur le Doryphora de la pomme de terre, aurait constaté, sur certains individus, la présence de kystes alaires ; sur six Insectes porteurs de ces kystes, un seul succomba à l'infection et les autres guérirent. Malheureusement, l'auteur n'a pu étudier le mécanisme de cette réaction qu'il considère néanmoins comme une réaction d'immunité.

Les Insectes ne présentent pas toujours la même sensibilité aux infections fungiques aux différents stades de leur existence. Les Laboulbéniacées par exemple ne s'attaquent qu'aux imagos et ne se rencontrent jamais sur les larves. **Empusa muscæ** s'attaque surtout à la forme adulte de la Mouche domestique ; HESSE a réussi cependant à infecter des asticots de Mouche avec ce Champignon mais, dans la nature, ces cas d'infection doivent être très rares.

On est encore très mal renseigné sur les causes qui font varier la résistance des Insectes aux mycoses suivant leur état de développement. De même, nos connaissances sur le rôle de l'immunité antifongique dans la nature sont encore trop peu étendues pour qu'on soit en mesure de tirer des conclusions sur l'importance de celui-ci. Là encore, de nouvelles recherches seront nécessaires si l'on veut combler cette lacune.

---

## TROISIÈME PARTIE

# LES MALADIES A ULTRAVIRUS

Les maladies infectieuses étudiées au cours des chapitres précédents sont causées par des éléments parasitaires qu'on peut mettre facilement en évidence par un simple examen microscopique ; ces parasites, d'autre part, peuvent être généralement isolés et cultivés sur milieux artificiels. L'introduction dans un organisme sain de germes provenant d'un individu malade ou de cultures pures sur milieu artificiel reproduit toujours la même maladie; celle-ci est donc définie avant tout par le parasite qui en est la cause.

Les maladies à ultravirus, comme les précédentes, sont contagieuses ; mais il est généralement impossible de mettre en évidence, dans le sang ou les autres tissus des Insectes qui en sont atteints, des éléments parasitaires définis. La très grande contagiosité de ces maladies ne peut guère s'expliquer cependant que par la multiplication, dans l'organisme malade, d'éléments figurés jouant le rôle de parasites au même titre que les microorganismes ordinaires. Bien qu'on ne puisse les mettre en évidence avec les méthodes d'investigation dont on dispose, on admet leur existence en tant qu'êtres organisés.

Les filtres bactériens en porcelaine dégourdie, comme les ultrafiltres en collodion, ne retiennent généralement pas les ultravirus, d'où

le nom de maladies à virus filtrant sous lequel on désigne souvent les maladies engendrées par eux ; mais d'après HAUDUROY, « la filtrabilité des « virus filtrants » est un caractère qui a perdu toute sa valeur comme base de classification du jour où l'on a découvert que des microbes visibles pouvaient eux aussi, dans certains cas, traverser les parois des bougies ».

« L'expression « virus filtrants » elle-même doit disparaître du langage scientifique car elle prête à confusion et conduira, si on persiste à l'employer, aux plus grossières et lamentables erreurs. Elle doit être remplacée par celle d' « ultramicrobes » ou d' « inframicrobes », vagues, imprécises, je le veux bien, mais dont l'imprécision justement nous est précieuse parce qu'elle s'accorde bien avec nos connaissances imparfaites ». On peut ajouter, à ces justes considérations, que certains ultravirus peuvent être retenus par les filtres bactériens les plus fins ; on comprendra mieux encore pourquoi la définition des ultravirus ne peut être basée uniquement sur les caractères de filtrabilité.

Le nombre des maladies à ultravirus est beaucoup plus grand qu'on ne le croit généralement. Dans son traité sur les ultravirus, HAUDUROY en cite 62 et ce n'est encore, d'après lui, qu'une liste provisoire. Parmi les mieux connues, citons la variole, la rougeole, la polyomyélite, l'herpès, les oreillons et peut-être certaines formes de grippe à allure très épidémique ; la clavelée des moutons ; la fièvre aphteuse, la vaccine des Bovidés ; la rage du chien ; chez les Invertébrés, le nombre des maladies à ultravirus connu est des plus réduits : HAUDUROY ne cite que les maladies à polyèdres dont la grasserie du Ver à soie représente le type le mieux connu et la « Sacbrood » des Abeilles. J'ai fait connaître depuis, un certain nombre d'autres maladies à ultravirus, en particulier la gattine du Ver à soie et deux maladies nouvelles des chenilles de **Pieris brassicæ.** Il est probable que le nombre de ces affections est beaucoup plus élevé qu'on ne l'imagine et qu'elles jouent un rôle important, quoique insoupçonné, dans la destruction naturelle des Insectes.

---

CHAPITRE VII

# Pathogénie des maladies à ultravirus.

## LES MALADIES A POLYÈDRES

La grasserie du Ver à soie et les autres maladies du même type qui ont été signalées chez différentes espèces de Lépidoptères, sont connues depuis longtemps déjà, sinon comme maladies à ultravirus, du moins comme maladies à caractère épidémique. Elles ont fait l'objet de nombreux travaux sur lesquels je ne m'étendrai pas longuement ici, ayant déjà traité par ailleurs cette question. Je rappellerai seulement les principales hypothèses qui ont été émises sur la cause morbide de ces maladies.

Un certain nombre d'auteurs les ont considérées comme des maladies de nature non parasitaire et leur ont attribué les causes les plus diverses, physiques ou physiologiques ; beaucoup ont incriminé des Bactéries ; les auteurs modernes attribuent généralement la cause des maladies à polyèdres à un ultravirus ; pour les uns, l'ultravirus est un être organisé bien défini comparable aux autres parasites microbiens; pour d'autres, au contraire, ce n'est que la forme filtrante de parasites microscopiques : Bactéries ou Levures. Cette dernière thèse a été soutenue récemment par POSPELOV et par NELLO MORI. Pour ACQUA enfin, la grasserie du Ver à soie n'est pas une maladie parasitaire, mais le produit d'un désordre métabolique.

La contagiosité des maladies à polyèdres n'est généralement plus mise en doute aujourd'hui même par ceux qui, comme ACQUA, ne croient pas à l'intervention d'un parasite ultramicroscopique. Cette contagiosité est d'ailleurs facile à démontrer : si l'on inocule par exemple des Vers à soie avec une gouttelette d'une dilution à 1 p. 1000 de sang infecté, tous contractent la maladie. L'infection par la voie intestinale est plus difficile à réaliser ; mais si le volume de liquide de contage ingéré est suffisant, la proportion des Vers qui s'infectent est élevée et peut atteindre 100 %.

J'ai montré que le virus de la grasserie est arrêté par les parois des bougies Chamberland à pores fins (L5 par exemple), mais peut traverser celle des bougies à pores plus grossiers (L2). CHAPMANN et GLASER ont obtenu des résultats analogues en étudiant la maladie des polyèdres des chenilles de **Lymantria dispar** (« Wilt disease ») ; ils ont montré entre autres que le virus filtre, bien qu'avec difficulté, à travers les parois du filtre Berkefeld « N » mais est arrêté par les filtres Chamberland F.

Le sang de Ver à soie en état de grasserie conserve toute sa virulence même lorsqu'il a été débarrassé des cellules et corpuscules polyédriques par filtration grossière et centrifugation : on peut donc admettre qu'il est en suspension dans le plasma. J'ai montré d'autre part que si l'on inocule à des vers sains du sang de ver contaminé depuis deux jours seulement et dans lequel, par conséquent, on ne trouve pas encore trace de corpuscules polyédriques, on déclenche les processus caractéristiques de la grasserie dans les mêmes conditions qu'avec le sang riche en corpuscules. Si l'on centrifuge ce sang et qu'on inocule deux lots de vers : l'un, avec le culot de centrifugation dilué dans de l'eau physiologique et stérile ; l'autre, avec la partie claire, on constate que la grasserie évolue plus rapidement dans le dernier lot que dans l'autre ; cette expérience montre que le virus se trouve surtout à l'intérieur des cellules sanguines, au moins au début de l'infection.

Puisque le virus en suspension dans le sang est arrêté par certains filtres bactériens, on doit en conclure, semble-t-il, qu'il est représenté par des éléments figurés d'une certaine grosseur. A l'examen microscopique, on ne distingue rien ; mais en employant l'éclairage sur fond noir, on met en évidence des éléments minuscules qui n'existent que dans le sang virulent. Si l'on examine ainsi une goutte de sang débarrassé au préalable des cellules et corpuscules par centrifugation, on distingue de nombreux granules animés de mouvements browniens à grande amplitude. Un examen approfondi permet de distinguer plusieurs espèces de granules : les uns, très brillants, existent dans le sang normal ; ils ont été aperçus par certains auteurs, en particulier par GLASER et CHAPMANN qui leur ont accordé une signification étiologique ; par la suite GLASER est revenu sur ses premières conclusions et, en 1918, il conclut ainsi de l'examen ultra-microscopique du sang virulent : « Nothing visible that could be interpreted as being different from minute protein or pigment particles ». Outre les granules normaux, on distingue d'autres granules moins faiblement éclairés, animés de mouvements rapides ; il est difficile de savoir s'il s'agit de mouvement brownien ou de mouvement propre ; les dimensions sont inférieures à 1/10 de μ ; la détection des granules n'est possible qu'à la suite d'un véritable entraînement à l'examen ultramicroscopique ; l'emploi d'un fort oculaire (oculaire périplanétique Leitz 25) est indispensable. A l'éclairage ordinaire, ils sont invisibles. J'ai pu les observer dans le sang de tous les vers en état d'infection avancée ou précoce. Moins de vingt-quatre heures après l'inoculation, on les observe en liberté dans le sang, mais en très petit nombre ; après quarante-huit heures, ils sont abondants ; par la suite, leur nombre s'accroît peu. Dans le filtrat de bougie Chamberland à pores fins (L4, L5, etc.), on ne trouve aucun granule semblable à ceux observés dans le sang virulent ; dans le liquide filtré sur triple couche de papier-filtre ordinaire, comme dans la partie claire du liquide de centrifugation, on trouve les granules en abondance ; or, ces liquides sont virulents pour les vers comme le sang complet ; la virulence est donc liée à l'existence des granules ultramicroscopiques. De mes observations et expériences, j'ai conclu à leur identification avec le virus de la grasserie.



A la suite de mes premières observations sur fond noir, j'avais conclu que le parasite était vraisemblablement intracytoplasmique ; des recherches plus approfondies m'ont amené à modifier ma première opinion. On rencontre effectivement des éléments parasitaires ultramicroscopiques dans la couche cytoplasmique de certaines cellules sanguines ; on peut même les observer très nettement dans les gouttelettes liquides qui exsudent du cytoplasme et font hernie en dehors de la cellule. Vers la fin du deuxième jour qui suit l'inoculation, on ne distingue plus de

granule dans le cytoplasme ; mais ils apparaissent de plus en plus nombreux dans le noyau où ils se multiplient d'abord dans la zone périphérique ; ils forment ainsi un anneau miroitant autour de la masse plus sombre constituée par de la chromatine condensée. Granules et masse chromatique sont en suspension dans un liquide qui remplit l'intérieur du noyau. Les corpuscules polyédriques prennent naissance dans ce liquide d'origine nucléaire ; il semble bien qu'on puisse assimiler leur formation à celle des cristaux ordinaires dans une solution sursaturée. Au terme du processus d'altération, le noyau très hypertrophié apparaît rempli de liquide dans lequel on observe d'innombrables granules animés de mouvements rapides ; sous l'influence de ces mouvements, les corpuscules polyédriques se déplacent eux-mêmes faiblement et apparaissent animés de mouvements vibratoires.

Ainsi le virus, essentiellement intracellulaire, pourrait se multiplier d'abord dans la couche cytoplasmique ; mais il se développerait surtout dans l'intérieur du noyau où il déterminerait la liquéfaction de la substance chromatophile, puis sa cristallisation. Cette hypothèse semble confirmer celle de PROWAZEK et de KNOCHE qui attribuent les maladies à polyèdres à l'action parasitaire d'un Protozoaire aberrant (Chlamydozoaire) voisin de ceux qui causent le trachome, le molluscum contagiosum. Il semble peu vraisemblable que les granules ultramicroscopiques soient superposables aux soi-disant Chlamydozoaires mis en évidence dans le noyau des cellules malades à la suite de méthodes spéciales de fixation et de coloration. De même les grains mis en évidence par KOMAREK et BREINDL dans l'intérieur des corpuscules polyédriques ne correspondent certainement pas à des éléments parasitaires vivants ; l'expérience suivante réduit d'ailleurs à néant l'hypothèse de ces deux auteurs ; ayant centrifugé du sang de ver gras, la partie claire a été répandue sur tarlatane et abandonnée à l'air ; le culot de centrifugation, après plusieurs lavages suivis de centrifugation, a subi de même l'action desséchante de l'air ; au bout d'un an, les corpuscules émulsionnés dans de l'eau physiologique étaient incapables de déclencher les processus de la grasserie alors que la partie du sang ne renfermant pas trace de corpuscules polyédriques avait conservé une grande partie de sa virulence.



## DYSENTERIES INFECTIEUSES DU VER A SOIE A ULTRAVIRUS

Un grand nombre de maladies intestinales différentes avaient été décrites par les auteurs anciens. PASTEUR les considéra toutes, au contraire, comme une seule et même affection : la flacherie dont la cause principale était attribuée, par lui, à la multiplication anormale des Bactéries dans le contenu intestinal. Parmi ces Bactéries, deux jouent un rôle particulièrement important : « le ferment en chapelets de grains « (**Streptococcus bombycis**) et le « vibrion à noyau » (**Bacillus bombycis**). La thèse de PASTEUR a été vivement combattue par les auteurs italiens, notamment par VERSON qui considérait l'infection comme un épiphénomène, la cause morbide vraie étant encore inconnue. Une thèse analogue est encore défendue aujourd'hui par un autre auteur italien, C. ACQUA. Les japonais, au contraire, admettent que les microbes intestinaux jouent un rôle important ; cependant, d'après eux, l'infection ne peut se développer que si les conditions extérieures rendent possible cette multiplication. C'est une thèse analogue qu'adopta CONTE ; mais il admit en outre que, suivant les espèces qui se développent, le facies de la maladie change. « Je pense donc, dit-il, qu'il faut admettre non pas une, mais des flacheries, véritables entités résultant d'une multiplication massive des bactéries ingérées avec la feuille ».

Mes recherches ont montré que la flacherie n'existait pas en tant qu'entité morbide définie, mais qu'elle devait être considérée comme un ensemble d'affections différentes : les unes contagieuses et épidémiques, les autres de nature non parasitaire. Ces dernières ne seraient en réalité que des accidents d'éducation. Les dysenteries infectieuses paraissent plus fréquentes que les autres, en France tout au moins et causent parfois des dégats très importants dans certaines localités des régions de grand élevage. Comme nous le verrons en étudiant leur anatomie pathologique, les lésions cellulaires et tissulaires sont très caractéristiques et peuvent servir à diagnostiquer les maladies.

Le **Streptococcus bombycis** se multiplie presque toujours dans le contenu intestinal des vers atteints de gattine ou « maladie des têtes claires » mais on constate des variations assez grandes dans l'intensité de l'infection microbienne intestinale ; on rencontre parfois, mais assez rarement, dans les élevages de Vers à soie décimés par la gattine, des vers

chez lesquels l'infection intestinale ne s'est pas développée. Ces faits semblent déjà indiquer que l'infection microbienne n'est pas seule en cause dans la maladie. Le **St. bombycis** est incapable, en effet, à lui seul, de déclencher les processus les plus caractéristiques de la maladie.

Si l'on centrifuge le contenu intestinal diarrhéique de Vers à soie atteints de gattine et qu'on fasse ingérer à des vers normaux une goutte de la partie claire surnageante, on reproduit la maladie avec ses lésions cellulaires et tissulaires ; ces lésions apparaissent après une incubation de cinq à six jours ; à ce moment, le contenu intestinal des vers malades est généralement amicrobien ; par la suite, le Streptocoque se multiplie plus ou moins activement, entraînant l'apparition des symptômes externes de « têtes claires ». Le contenu amicrobien des vers malades étant centrifugé à nouveau et la partie claire surnageante étant utilisée pour une nouvelle série d'expériences, les mêmes phénomènes se reproduisent. Une troisième et quatrième série d'expériences donnent des résultats identiques. La gattine amicrobienne est donc transmissible dans les mêmes conditions qu'une maladie infectieuse ordinaire.

Si l'on conserve en tube scellé le contenu intestinal de ver gattiné débarrassé de microbes par centrifugation, la virulence du liquide est à peine atténuée au bout d'un an. De même si l'on abandonne celui-ci à l'air et qu'on utilise, l'année suivante, le résidu sec pour des expériences d'infestation, on obtient sensiblement les mêmes résultats qu'avec le liquide conservé en tube scellé. La résistance du virus aux agents extérieurs apparaît donc beaucoup plus grande que celle des microbes.

La filtration sur bougie de porcelaine du contenu intestinal diarrhéique de ver atteint de gattine ordinaire détruit sa virulence, quel que soit le modèle de filtre bactérien employé. Le virus est donc retenu par ces filtres et cependant, l'examen microscopique ordinaire ne révèle la présence d'aucun élément figuré pouvant être considéré comme l'agent parasitaire de la maladie. Si l'on examine sur fond noir le contenu intestinal virulent, d'abord après centrifugation, puis après filtration, on constate entre les deux liquides une différence très nette : alors que le dernier apparaît optiquement vide, le liquide de centrifugation se présente sous un aspect analogue au filtrat de sang de ver atteint de grasserie après passage dans les bougies à pores grossiers ; les particules ultramicroscopiques faiblement éclairées sont du même ordre de gran-



deur que celles du virus de la grasserie. La virulence étant liée à la présence de ces particules, on peut conclure qu'elles représentent le parasite même de la gattine.

Par ses caractères généraux, la gattine amicrobienne se rapproche de la grasserie et des maladies à ultravirus en général ; nous verrons en effet que les lésions cellulaires sont très marquées et intéressent plus particulièrement le noyau.

Le **Streptococcus bombycis** qui accompagne très souvent l'ultravirus doit être considéré comme un « microbe de sortie » au même titre que le **Bacillus suipestifer** chez les Porcs atteints de hog-cholera ; l'action pathogène du microbe s'exerce principalement dans la partie antérieure du tube digestif moyen dont la sécrétion devient rapidement anormale et prend une réaction nettement alcaline.

Ce n'est pas toujours le Streptocoque qui se multiplie anormalement dans le contenu intestinal des Vers à soie parasités par l'ultravirus ; dans un certain nombre de cas, l'infection microbienne intestinale a pour cause un bacille sporulé, le **Bacillus bombycis**, dont la présence avait déjà été signalée par Pasteur ; dans ce cas, les vers malades ne présentent plus les symptômes externes de « têtes claires », mais ceux de la flacherie décrite par Pasteur. On constate en particulier que les vers malades dégagent une odeur très désagréable et qu'ils meurent beaucoup plus rapidement que ceux atteints de gattine simple ; les cadavres noircissent en outre assez rapidement. J'ai donné le nom de « flacherie vraie » ou « flacherie de Pasteur » à cette forme de dysenterie infectieuse. La cause morbide principale, comme dans la gattine ordinaire, est toujours l'ultravirus décrit précédemment.

## LES MALADIES A ULTRAVIRUS DES CHENILLES DE PIERIS BRASSICÆ

Deux maladies nouvelles correspondant chacune à un type pathologique nouveau ont été observées chez les chenilles de **Pieris brassicæ :** l'une, très répandue et qui joue un rôle assez important dans la destruction naturelle des Piérides, a été découverte en 1924 ; elle est caractérisée par la présence, dans le sang des chenilles malades, de corps hyalins, réfringents, sans structure apparente et de forme et de dimensions très irrégulières. L'autre a été observée deux ans plus tard dans

une localité de la région lyonnaise ; bien qu'elle soit très contagieuse, elle ne paraît pas jouer un rôle important dans la nature. Les chenilles malades se reconnaissent extérieurement à la teinte porcelanée de la partie ventrale du corps ; au moment de la mort, la peau se déchire très facilement et laisse écouler un liquide laiteux semblable à celui des Vers à soie atteints de grasserie.

Les chenilles atteintes de la première maladie ne se distinguent pas extérieurement des chenilles saines ; dans leur sang, plus ou moins trouble, on n'observe la présence d'aucun élément microbien. La maladie est cependant très contagieuse : si l'on injecte, dans la cavité générale des chenilles saines, une gouttelette de sang infecté, même très dilué, on déclanche les symptômes caractéristiques de la maladie. Ces symptômes apparaissent sensiblement plus tôt que dans la grasserie du Ver à soie. En examinant le sang sur fond noir, on constate la présence de petits granules faiblement éclairés, animés de mouvements browniens à grande amplitude ; ces granules présentent beaucoup d'analogie avec ceux que l'on rencontre dans le sang des vers gras ou des vers atteints de gattine. On les observe nettement dans le cytoplasme des micronucléocytes, principalement dans les vacuoles et les parties plus fluides du cytoplasme qui font hernie à la périphérie de la cellule. La filtration sur bougie de porcelaine à pores fins retient les granules et détruit la virulence du sang. Le chauffage à 70-72° C pendant une demi-heure diminue la virulence sans la supprimer ; la destruction de celle-ci est complète après chauffage à 75° C. De mes expériences, j'ai conclu à la nature organisée des granules ultra-microscopiques observés dans le sang des chenilles malades.

L'autre maladie à ultravirus des Piérides est également très contagieuse ; un simple repas de feuille de chou souillée avec sang infecté suffit pour contaminer des chenilles saines. La durée d'incubation de la maladie varie avec la température ; si celle-ci est inférieure à 10° C, la durée d'incubation est très allongée et les symptômes externes peuvent faire défaut ; à 20° C, par contre, la mort survient assez rapidement avec les symptômes caractéristiques décrits plus haut.

Le sang des chenilles en état d'infection peu avancée est légèrement trouble et très nettement fluorescent ; si on l'examine sur fond noir, on observe de nombreux granules animés de mouvements browniens. Ces granules, de dimensions très supérieures à ceux qu'on observe dans



le sang des chenilles atteintes de la maladie précédemment décrite, sont visibles aux plus forts grossissements du microscope ; mais en raison de leur faible réfringence, l'observation en est assez difficile. On ne peut les mettre en évidence sur frottis colorés au Giemsa, même après action prolongée du colorant ; après coloration à chaud à la fuchsine phéniquée de Ziehl, on distingue très nettement les éléments parasitaires : ce sont de très petites cocci mesurant 0,2 à 0,3 μ de diamètre ; ils se multiplient comme les Microcoques ordinaires, mais les formes en diplocoque sont assez rares. Ils présentent certaines analogies morphologiques avec le virus de la péripneumonie des Bovidés.

Le virus ne se multiplie pas dans le sang mais seulement dans le cytoplasme des cellules adipeuses et hypodermiques ; c'est donc un parasite endocellulaire comme ceux des autres maladies à ultravirus que nous venons d'étudier. Les essais d'inoculation à d'autres espèces que les chenilles de **Pieris brassicæ** ont tous échoué. La spécificité parasitaire du virus est donc très grande et comparable à celle des autres parasites ultramicrobiens.

Les quatre espèces d'ultravirus entomophytes que j'ai mis en évidence jusqu'ici montrent tous une grande affinité pour la cellule vivante : ce sont donc des virus cytotropes. D'après HAUDUROY, le cytotropisme représente le caractère le plus important des ultravirus ; nous avons vu que certains Protozoaires, les Microsporidies en particulier, sont aussi caractérisés par leur cytotropisme ; mais il paraît bien difficile d'établir un rapprochement entre les deux sortes de parasites. PROWAZEK avait cru devoir ranger les inclusions nucléaires observées dans le noyau des cellules de Ver à soie atteints de grasserie, parmi les Protozoaires (Chlamydozoaires) ; c'est également l'opinion de LIPSCHUTZ qui décrivait sous le nom de Strongyloplasmes les inclusions soi-disant parasitaires rencontrées dans certaines cellules au cours des infections à ultravirus. Chlamydozoaires ou Strongyloplasmes ne sont mis en évidence que par une technique spéciale différente de celle qu'on emploie généralement pour la recherche des Bactéries et des Protozoaires dans les tissus. Les méthodes d'imprégnation à l'argent donneraient des résultats particulièrement nets, de même que la surcoloration par le mélange de Giemsa. Mais on peut se demander si les granulations qui apparaissent ainsi dans les cellules représentent effectivement des éléments parasitaires. La méthode de Levaditi que j'avais employée pour

l'étude des chenilles de Piéride atteintes de pseudo-grasserie, ne m'a pas donné de bons résultats ; des granulations rappelant la forme des éléments parasitaires observées à l'état frais, sont effectivement mises en évidence dans les cellules parasitées, mais on les trouve également dans les cellules non parasitées. De même, après emploi du Giemsa, j'ai pu mettre en évidence, dans le cytoplasme des cellules sanguines de Piérides atteintes de la maladie à inclusions, des granulations minuscules que l'on pouvait confondre avec les éléments parasitaires ; mais les mêmes granulations peuvent apparaître également dans les cellules saines. Mentionnons également que la coloration des coupes par la méthode de Kull, après fixation au mélange de Regaud ou au formol salé, fait apparaître presque toujours, dans le cytoplasme des cellules adipeuses du Ver à soie sain ou atteint de grasserie, des granulations colorées par le bleu de toluidine qui simulent à s'y méprendre des éléments parasitaires : ce sont très vraisemblablement des précipitations de matière colorante mais nullement des éléments organisés.

J'ai proposé la création d'un groupe nouveau, intermédiaire entre les Bactéries et les Protozoaires, renfermant ces différents ultravirus dont les éléments peuvent être mis en évidence après examen sur fond noir. Ce faisant, j'ai voulu surtout attirer l'attention sur la nature organisée de ces éléments ; mais je me garderai bien de généraliser et d'étendre à toutes les maladies à ultravirus les conclusions de mes études sur les ultravirus des Insectes. Les quatre espèces étudiées jusqu'ici sont désignées sous les noms suivants :

**Borrellina bombycis** : parasite de la grasserie du Ver à soie.

**Borrellina flacheriæ** : parasite de la gattine du Ver à soie.

**Borrellina pieris** : parasite de la maladie à inclusions des Piérides.

**Borrellina brassicæ** : parasite de la pseudo-grasserie des Piérides.

Les 3 premières espèces sont représentées par des éléments de moins de 0,1 µ de diamètre ; la dernière est caractérisée par les dimensions sub-microscopiques de ses éléments.

Les différentes maladies à polyèdres que l'on a observées chez plusieurs espèces de Lépidoptères ont pour cause morbide des ultravirus très voisins de celui de la grasserie du Ver à soie, mais non identiques.

CHAPITRE VIII

# Anatomie pathologique des maladies à ultravirus.

## MALADIES A POLYÈDRES

La multiplication des éléments parasitaires dans les cellules sensibles à l'infection (cellules sanguines, adipeuses, hypodermiques, trachéales) a pour conséquence la destruction du noyau et la formation de corpuscules de forme polyédrique aux dépens de la substance nucléaire. Les altérations nucléaires sont bien mises en évidence par les méthodes histologiques ordinaires. J'ai longuement étudié les caractères des lésions histologiques et cytologiques dans mes ouvrages consacrés aux maladies du Ver à soie. Je ne ferai donc ici qu'un exposé sommaire des processus qui se déroulent dans les cellules parasitées et aboutissent à la transformation de la substance nucléaire en corpuscules polyédriques.

L'emploi des méthodes de fixation et de coloration dites mitochondriales permet d'obtenir des figures qui se rapprochent beaucoup de celles qu'on observe à l'état frais, soit au microscope, soit à l'ultramicroscope. Après coloration suivant la méthode de Kull, on met en évidence à la fois des altérations cytoplasmiques et nucléaires. Les altérations cytoplasmiques sont les premières qui apparaissent ; le chondriome, qui se présente dans les cellules normales sous forme de fila-

ments plus ou moins allongés, devient granuleux. Dans le noyau, les altérations sont extrêmement complexes : les nucléoles perdent tout d'abord leur forme arrondie et tendent à fusionner puis semblent disparaître ; la substance chromatophile, normalement disposée en grains régulièrement distribués dans toute la masse du noyau, se concentre en masses fortement chromatophiles ; la plupart de ces masses appa-

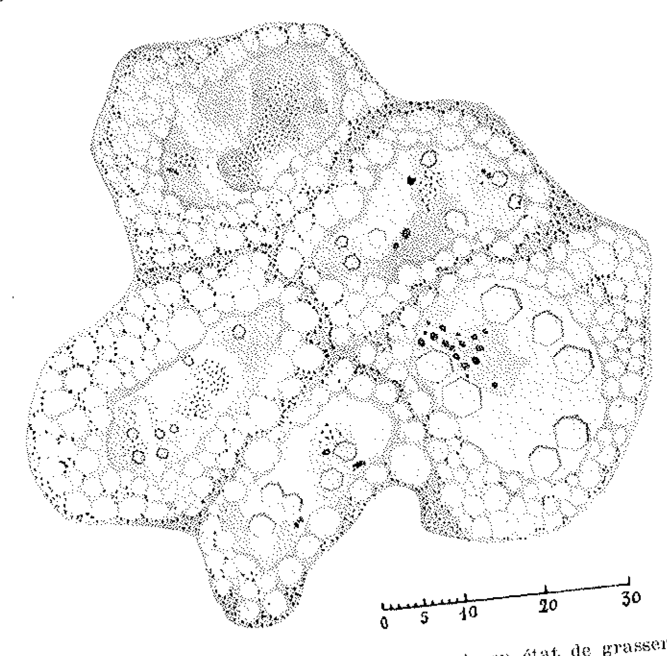



Fig. 46. — Cellules adipeuses de Ver à soie en état de grasserie. Fixation au formol salé; coloration de Kull.

raissent tachetées de points colorés en rouge par la fuchsine et d'origine vraisemblablement nucléolaire. On peut expliquer leur présence sur les masses chromatophiles par une précipitation de la substance nucléolaire au niveau de leur surface. Les corpuscules polyédriques, colorables tout d'abord par l'hématoxyline ou la fuchsine acide, prennent naissance généralement en dehors des masses ; ils grossissent peu à peu, perdent leur sidérophilie et finissent par remplir tout le noyau. Ils sont mis ensuite en liberté dans le sang par destruction de la cellule.

La coloration des frottis de sang par la méthode de Giemsa après fixation par l'alcool méthylique, permet d'étudier dans de bonnes con-



ditions les altérations nucléaires dans les cellules sanguines. On observe d'abord une concentration de la substance nucléaire et la formation

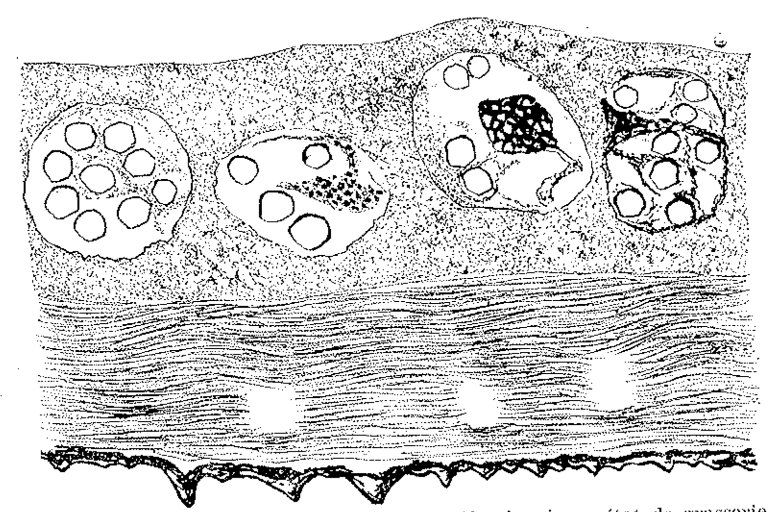


Fig. 47. — Coupe à travers l'hypoderme d'un Ver à soie en état de grasserie. Fixation au Duboscq-Brasil ; coloration à l'hématoxyline.

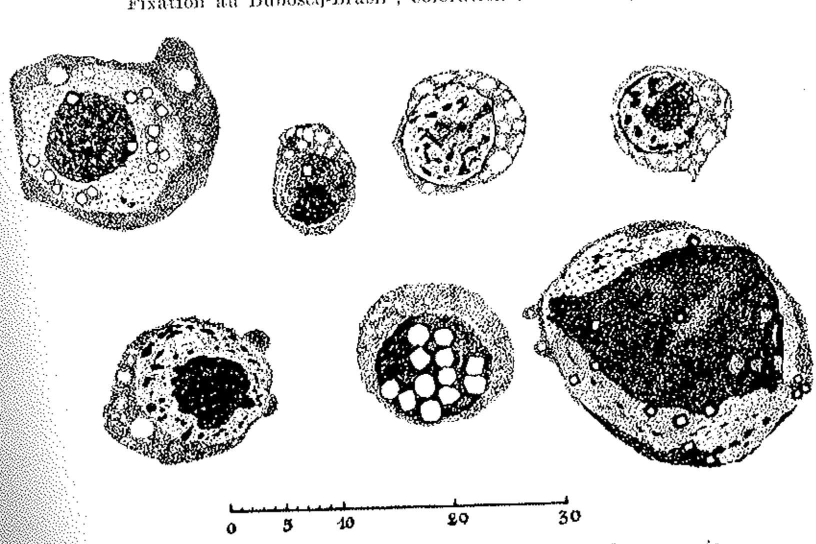



Fig. 48. — Cellules sanguines de Ver à soie en état de grasserie. Frottis de sang coloré au Giemsa.

d'une masse centrale colorée en pourpre foncé; tout autour, s'étend une zone moins intensément colorée dans laquelle on n'observe aucune

trace de granule ; cette zone, à l'examen sur fond noir, apparaît occupée cependant par les éléments parasitaires ; nous avons vu qu'ils formaient un anneau miroitant autour de la masse centrale : mais en raison de leurs dimensions extrêmement réduites, il est impossible de les

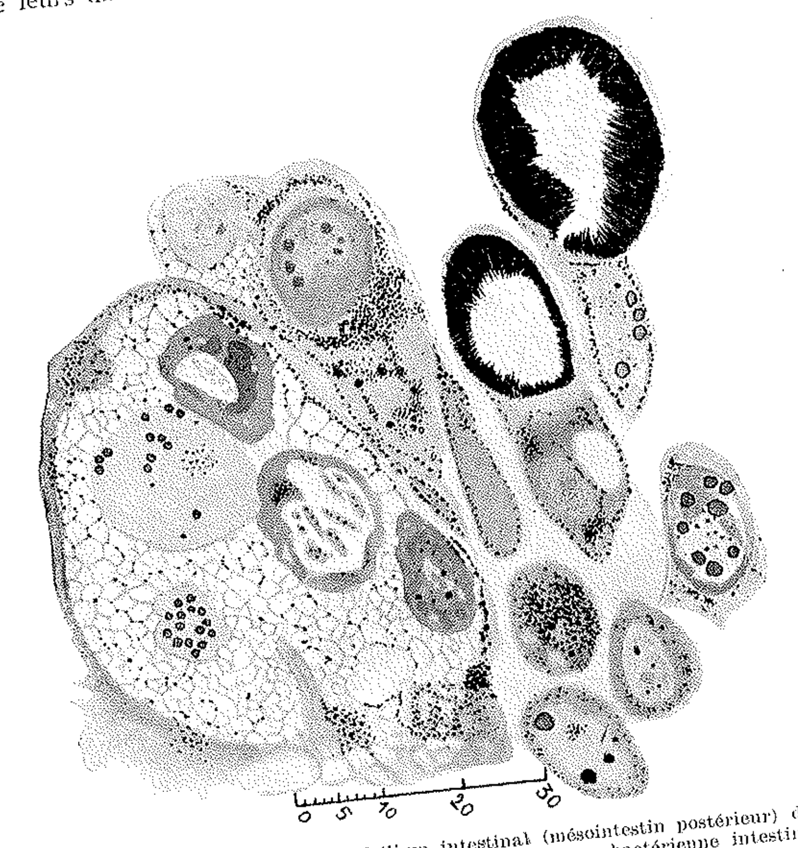



Fig. 49. — Coupe à travers l'épithélium intestinal (mésointestin postérieur) d'un Ver à soie atteint de grasserie et en état d'infection bactérienne intestinale. Fixation au formol salé ; coloration de Kull.

mettre en évidence, quelles que soient les méthodes de coloration employées.

L'épithélium intestinal échappe généralement à l'action parasitaire de l'ultravirus de la grasserie ; dans certains cas cependant, les cellules peuvent devenir réceptives ; c'est ce qui se produit notamment lorsque les Vers à soie sont infestés par une Bactérie intestinale sporulée : le



**Bacillus bombycis.** Nous avons vu précédemment que cette Bactérie accompagnait assez souvent l'ultravirus de la gattine ; dans le cas de la grasserie, on peut dire que le développement du Bacille est conditionné par celui de l'ultravirus ; en revanche, l'infection microbienne conditionne l'infection de la paroi intestinale par le virus. On note quelques particularités intéressantes dans les processus qui se déroulent dans les cellules épithéliales en voie d'infection. Comme dans les autres cellules, on observe bien une altération précoce du chondriome et des nucléoles, mais la formation, dans le noyau, d'une ou plusieurs masses centrales est ici exceptionnelle ; le plus souvent, on observe une concentration de la substance chromatophile à la périphérie du noyau, la partie centrale restant claire. Quelquefois, on observe dans la masse périphérique la présence de petits grains fuchsinophiles d'origine vraisemblablement nucléolaire, mais en général, la substance des nucléoles infiltre la masse chromatophile où elle constitue des plages plus ou moins étendues qui apparaissent colorées en rose par la fuchsine. Les corpuscules polyédriques sont en général plus petits que dans les cellules adipeuses ; ils restent longtemps colorés en rose, à leur périphérie, par la fuchsine.

Les cellules nerveuses, les cellules glandulaires de la base des poils, les autres cellules glandulaires de l'organisme (glandes séricigènes, salivaires, exuviales, œnocytes), les cellules germinales, ne présentent jamais de lésions de grasserie.

## GATTINE DU VER A SOIE

Si on examine une coupe longitudinale de Ver à soie atteint de gattine, on constate que la partie postérieure de l'intestin moyen présente des lésions qui ont pour siège principal le noyau des cellules épithéliales. Chez les vers normaux, le noyau de ces cellules se présente sous l'aspect d'un semis très régulier de grains colorés en noir par l'hématoxyline ferrique ; chez les vers malades, au contraire, le noyau apparaît très hypertrophié et forme une tache énorme intensément colorée par l'hématoxyline ou à peine teintée ; la chromatine forme des plages granuleuses rejetées à la périphérie ou dispersées dans la masse nucléaire. On n'observe pas la formation d'inclusions cristalloïdes.

Les lésions nucléaires sont limitées au tiers postérieur de l'intestin moyen ; elles sont des plus constantes et permettent d'identifier avec certitude la maladie. Il n'est pas indispensable de faire des coupes pour

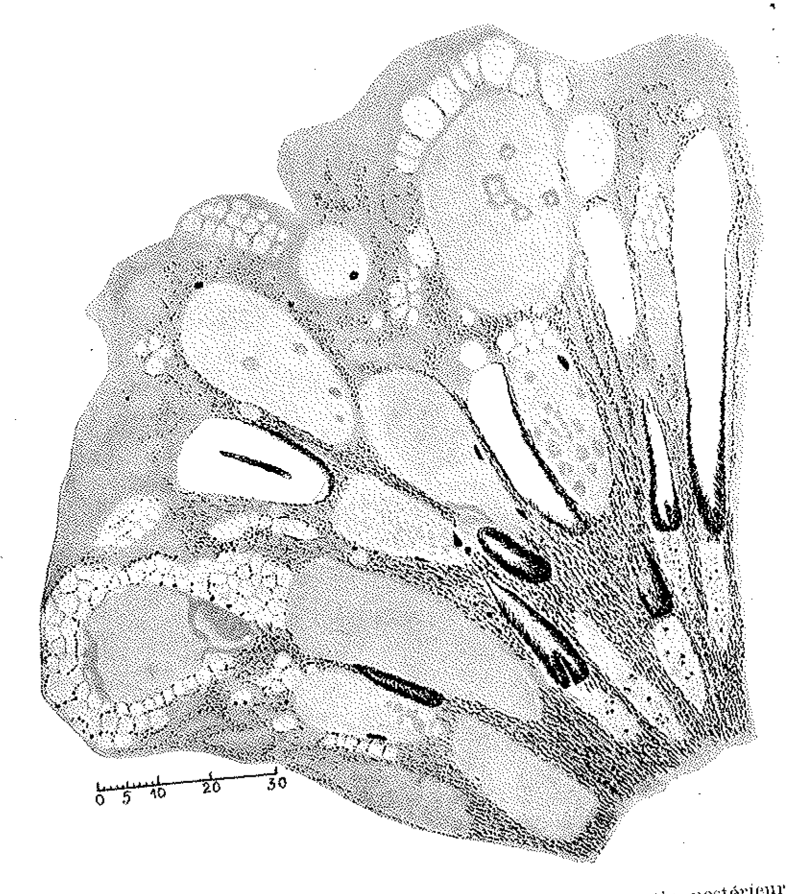



Fig. 50. — Coupe à travers la paroi épithéliale du mésointestin postérieur d'un Ver à soie en état de gattine. Fixation au formol salé ; coloration de Kull.

caractériser les lésions ; on peut en effet les mettre facilement en évidence sur simple frottis coloré au Giemsa : il suffit de prélever avec des pinces un lambeau découpé dans la partie postérieure de l'intestin moyen ; de l'appliquer plusieurs fois, par sa face interne, sur une lame de verre : les cellules épithéliales se détachent et se collent à la surface



du verre sans se déformer sensiblement ; après dessication, on fixe à l'alcool méthylique absolu et colore par le mélange de Giemsa. Les no-

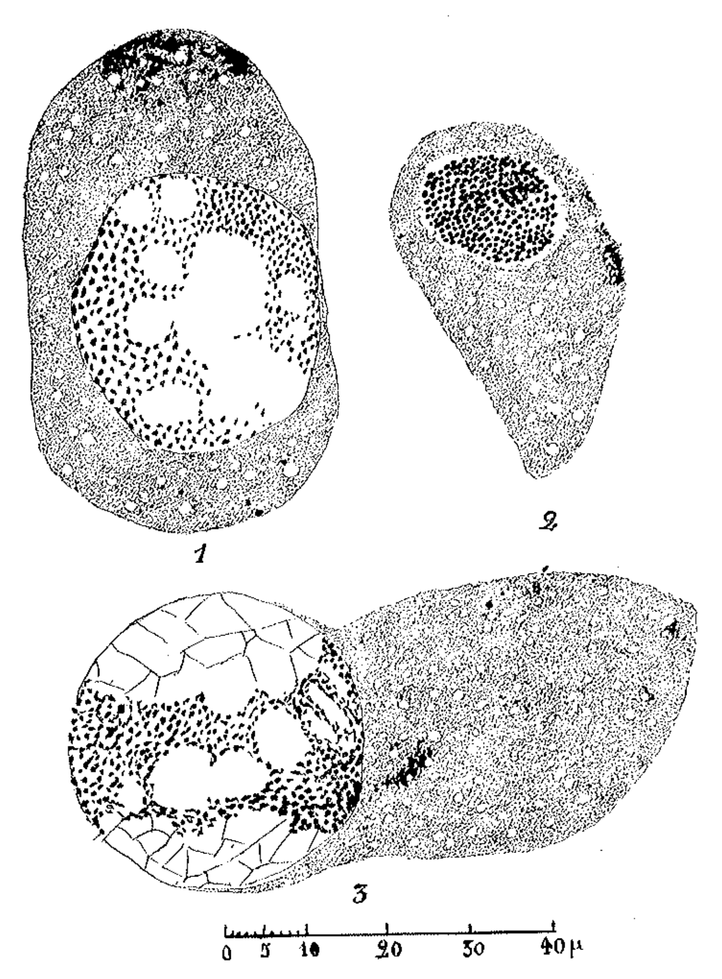



Fig. 51. — Cellules épithéliales du mésointestin postérieur d'un Ver à soie atteint de gattine. Frottis coloré au Giemsa.

yaux des cellules malades se présentent sous l'aspect de taches colorées en rose avec plages granuleuses plus intensément colorées et dispersées dans la masse. La différence avec les noyaux des cellules normales est des plus frappantes et le diagnostic de la maladie est facile à établir.

Lorsque l'infection à ultravirus est compliquée d'infection microbienne à **B. bombycis** (on a affaire à la Flacherie vraie ou Flacherie de Pasteur), on constate une extension des lésions nucléaires aux cellules épithéliales de la région intestinale moyenne. Ainsi, l'infection microbienne rendue possible par le développement de l'ultravirus, a pour conséquence une modification du chimisme des cellules épithéliales du mésointestin moyen et une sensibilisation de ces cellules à l'infection ultramicrobienne. Ces constatations sont à rapprocher de celles que nous avons faites en étudiant l'influence du **B. bombycis** sur le cytotropisme de l'ultravirus de la grasserie.

En dehors des lésions du noyau, on peut mettre en évidence d'autres altérations cellulaires, moins caractéristiques sans doute, mais importantes néanmoins en raison de leur répercussion sur le fonctionnement de la cellule : le chondriome en particulier qui, dans les cellules épithéliales de l'intestin moyen, se présente normalement sous l'aspect de longs chondriocontes plus ou moins flexueux disposés en files longitudinales, se fragmente et donne naissance à des grains ou à de courts bâtonnets de calibre réduit. Dans les cellules basales de remplacement ou dans les cellules épithéliales encore peu altérées, les chondriocontes ou les grains mitochondriaux qui en dérivent sont encore orientés suivant l'axe pôle basal-pôle distal. La vacuole ciliée des cellules dites caliciformes subit des modifications profondes qui aboutissent le plus souvent à sa résorption définitive ; il y a d'abord destruction de la bordure ciliée interne dont on retrouve les traces sous forme de blocs fuchsinophiles envacuolés ou non.

Signalons enfin, dans la partie antérieure de l'intestin moyen, la proportion anormale des boules de sécrétion, indice d'une sécrétion anormale ; il y a aussi destruction plus ou moins active de cellules épithéliales ; celles-ci tombent dans la lumière intestinale et contribuent à l'épaississement de la membrane péritrophique.

## MALADIES A ULTRAVIRUS DES PIÉRIDES

La maladie causée par **Borrellina pieris** est caractérisée, comme les précédentes, par des lésions nucléaires et protoplasmiques d'un type très particulier. Disons tout d'abord que ces lésions peuvent être observées dans les micronucléocytes et les œnocytoïdes du sang, dans les cellules adipeuses. Si l'on examine après coloration au Giemsa, un frottis de sang



de chenille inoculée quelques heures auparavant avec du sang de chenille malade, on constate que la chromatine qui, normalement, se présente comme un semis régulier de petits grains colorés en pourpre, a tendance à se condenser en masses plus ou moins volumineuses de forme très irrégulière. Certains aspects, rappellent ceux qu'on observe au cours des processus de division caryocinétique ; d'autres représentent des phases du processus de dégénérescence pycnotique, mais les masses se dispersent

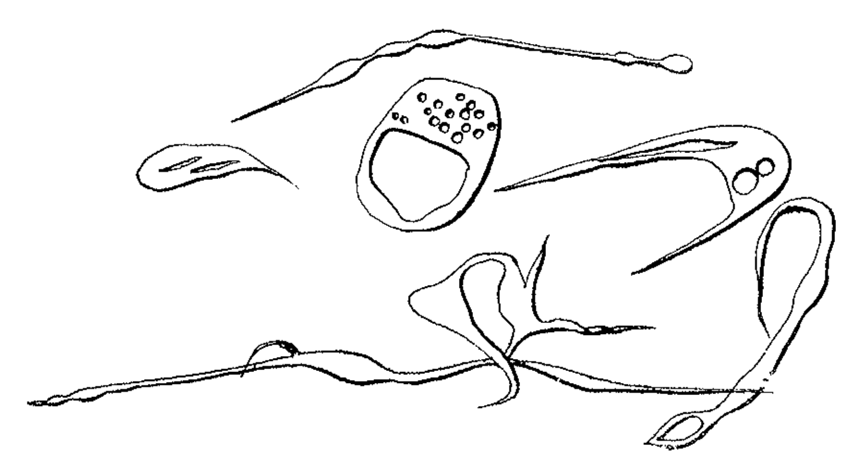


**Fig. 52.** — Corps réfringents en suspension dans le sang de chenille de **Pieris brassicæ** parasitée par **Borrellina pieris.**

dans toute la cellule. A côté du noyau qui a perdu plus ou moins son individualité, apparaît une masse diffuse, colorée faiblement en rose par le Giemsa. Dans une phase ultérieure, il se forme, dans la couche cytoplasmique, un anneau coloré faiblement en rose comme la masse diffuse ; l'anneau traverse toujours cette dernière et paraît être en rapport direct avec elle. Nous verrons, en étudiant par d'autres méthodes de fixation et de coloration les altérations cytoplasmiques, que ce n'est pas seulement une apparence.

L'anneau est bien visible à l'état frais et sans emploi de colorants, grâce à sa grande réfringence ; il affecte dans la cellule une position équatoriale. Au bout de quelques jours, un certain nombre de cellules sont détruites et les anneaux flottent librement dans le sang ; les corps réfringents qui flottent dans le sang ne sont pas tous en forme d'anneau; j'ai représenté dans la figure 52 les principales formes observées à l'état

frais dans une goutte de sang de chenille malade ; on voit, d'après la figure, qu'elles sont des plus variables. Il est impossible de les mettre en évidence sur frottis coloré, quels que soient les colorants employés. J'avais cru tout d'abord que la masse chromatophile observée au début de l'altération cellulaire était originaire du noyau et qu'elle représentait de la chromatine ayant simplement diffusé du noyau ; dans cette hypothèse, on pouvait homologuer les inclusions aux corpuscules polyé-

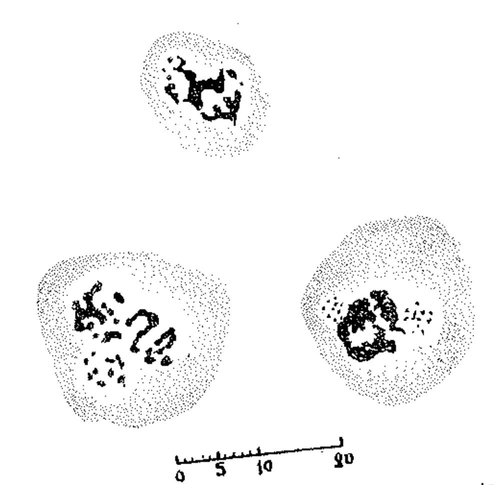


Fig. 53. — Oenocytoïdes de Piéride parasitée par **B. pieris**. Giemsa.

driques qui naissent dans les mêmes cellules au cours de l'évolution de la grasserie du Ver à soie et des autres maladies du même type. L'hypothèse, quelque séduisante qu'elle fût, a dû être abandonnée à la suite des constatations faites sur coupes après fixation et coloration par les méthodes mitochondriales.

Une curieuse réaction qu'on peut observer dans le sang des chenilles en cours d'infection, c'est la formation de cellules géantes à partir des œnocytoïdes. Le noyau se multiplie activement, mais la multiplication n'a pas lieu suivant un mode défini : dans un certain nombre de cellules on observe que les noyaux secondaires résultent d'une sorte de pulvérisation de la chromatine du noyau principal ; c'est le cas représenté dans la figure 53 ; dans d'autres cellules, on observe des figures qui rappellent certaines phases de la division caryocinétique ;



ces figures sont fréquentes dans la cellule représentée ci-dessous (Fig. 54). On peut rapprocher la formation de ces cellules géantes de celles qui apparaissent dans le sang des chenilles de Piéride parasitées par les larves d'**Apanteles** ou par des Microsporidies. Les unes et les autres dérivent toutes des mêmes cellules, les œnocytoïdes, dont le rôle fonctionnel, chez les chenilles, n'a pu être mis en évidence jusqu'ici. Celles

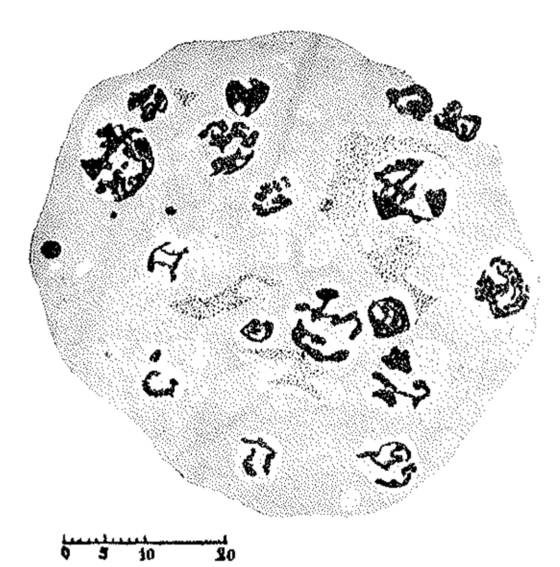


Fig. 54. — Cellule géante dans le sang de chenille de Piéride parasitée par **B. pieris**, trois jours après l'inoculation. Coloration au Giemsa.

qui naissent dans les chenilles apantélisées ou dans les chenilles atteintes de microsporidiose sont uninucléées et ont une grande vitalité ; les autres sont multinucléées et se désorganisent très rapidement.

L'étude des processus d'altération cytoplasmique et nucléaire a été faite après emploi des méthodes de fixation ordinaires et des méthodes mitochondriales. Les premières ne permettent pas de déterminer l'origine des productions pathologiques caractéristiques de la maladie. Sur pièces fixées au mélange de Duboscq-Brasil, on observe que les corps réfringents cytoplasmiques se teintent en noir par l'hématoxyline, mais seulement au début de leur formation ; ils perdent rapidement leur colorabilité et ne peuvent ensuite plus être mis en évidence. Dans les cellules

adipeuses en voie d'altération, on distingue nettement les corps réfringents curieusement ramifiés et enchevêtrés.

L'emploi des méthodes mitochondriales, en particulier la fixation au formol salé ou au bichromate-formol de Regaud, suivie de chromisation, donne des indications intéressantes sur la génèse des inclusions



Fig. 55. — Cellules adipeuses de chenille de **Pieris brassicae** parasitée par **Borrellina pieris**. Fixation au formol salé; coloration de Kull.

cytoplasmiques. Dans les cellules adipeuses normales, après coloration des coupes par la méthode de Kull, le chondriome apparaît formé de longs chondriocontes disposés dans les travées cytoplasmiques et répartis dans toute la masse de la cellule. Dans les cellules en voie d'altération, on observe tout d'abord une concentration du chondriome en certains points de la masse cytoplasmique et la transformation des chondriocontes en grains de grosseur variable qui ont tendance à fusionner.



Il se forme ainsi de véritables masses chondriosomiques qui peuvent apparaître, même après fixation par le Duboscq-Brasil, comme de véritables inclusions sidérophiles. Ce stade n'est d'ailleurs que passager ; les corps réfringents prennent naissance, semble-t-il, par étirement de ces masses. A un stade plus avancé d'altération, ces corps ne se colo-

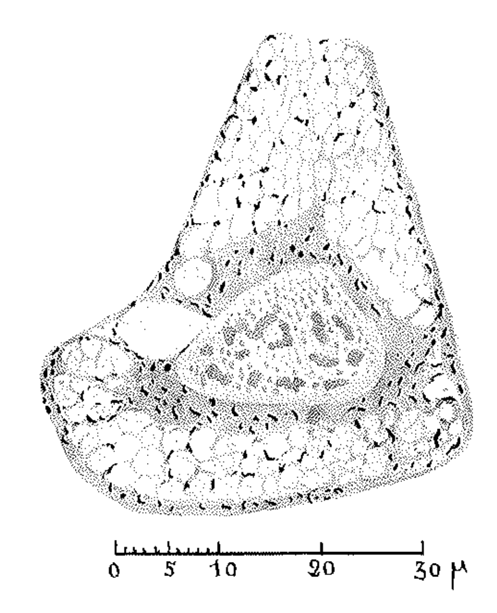



Fig. 56. — Cellule adipeuse normale de Piéride parasitée par **Borrellina brassicae**. Fixation au Regaud ; coloration de Kull.

rent plus que sur le pourtour avec la fuchsine acide ; lorsqu'ils sont en suspension dans le sang, ils n'ont plus d'affinités colorantes.

A ma connaissance, il n'a jamais été signalé jusqu'ici de maladie dont les lésions cellulaires appartiennent au même type pathologique que celles observées chez les chenilles de Piéride ; chez les Vertébrés par exemple, on ne connaît pas d'affection dont les lésions les plus caractéristiques ont pour siège le chondriome de certaines cellules de l'organisme. On peut donc considérer comme nouveau le type pathologique qui vient d'être décrit.

Dans la pseudo-grasserie des chenilles de Piérides, on n'observe pas la formation d'inclusions cytoplasmiques ou nucléaires. Après fixation au mélange de Duboscq-Brasil et coloration à l'hématoxyline ferrique, les cellules adipeuses et hypodermiques se présentent avec un noyau très hypertrophié qui perd rapidement son individualité ; les grains de chromatine semblent devenir plus sidérophiles et se condenser

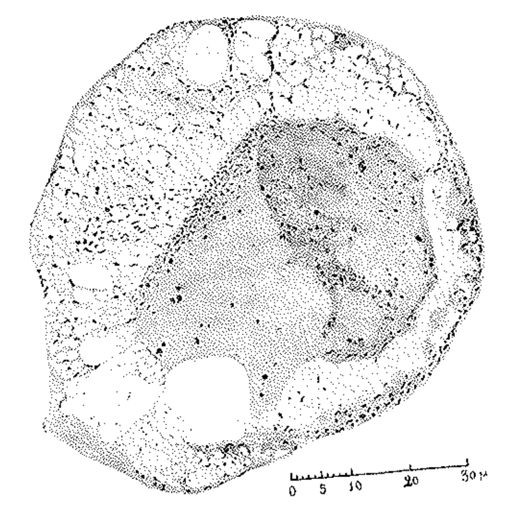



**Fig. 57.** — Cellule adipeuse de Piéride parasitée par **Bor. brassicae** ; début des processus d'altération nucléaire. Fixation au Regaud ; coloration de Kull.

en masses de forme irrégulière et de grosseur variable ; à un stade plus avancé de désorganisation, la chromatine prend un aspect laqué et le noyau, qui occupe la plus grande partie de la cellule, apparaît comme une tache à peine colorée en gris pâle par l'hématoxyline ferrique.

Après fixation par le bichromate-formol ou le formol salé, post-chromisation et coloration des coupes selon la méthode de Kull, on observe les modifications suivantes qui diffèrent sensiblement de celles décrites plus haut : les nucléoles qui sont en nombre variable dans la cellule adipeuse et dont la forme est généralement arrondie, se divisent et donnent naissance à des grains très fuchsinophiles de grosseur très variable qui



sont rejetés le plus souvent à la périphérie du noyau. Au terme du processus de désorganisation de la cellule, les grains de nucléoplasme

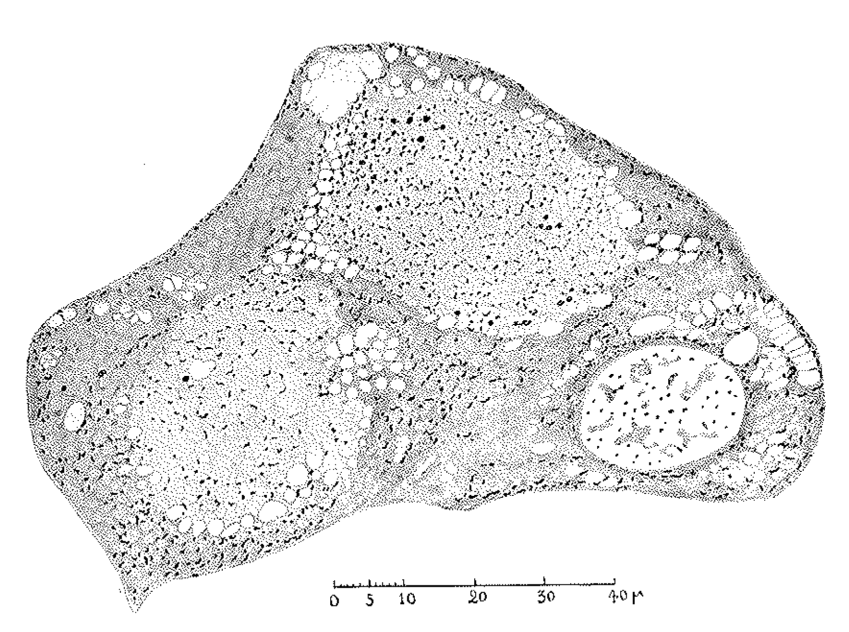



**Fig 58.** — Groupe de cellules adipeuses de Piéride parasitée par **Bor. brassicae.** Une cellule avec noyau presque normal et deux autres avec noyau détruit. Fixation au Regaud ; coloration de Kull.

disparaissent. Les altérations des nucléoles, au cours de l'évolution de la pseudo-grasserie, rappellent celles qu'on observe dans la grasserie du Ver à soie. Le chondriome peut envahir l'aire nucléaire, ce qui est l'indice d'une interpénétration des substances nucléaire et cytoplasmique.

CHAPITRE IX

# Epidémiologie des maladies à ultravirus.

Les maladies à ultravirus peuvent être la cause d'épidémies très meurtrières ; on connaît déjà les dommages considérables causés certaines années par la grasserie dans les élevages de Vers à soie ; on sait aussi que des maladies très voisines peuvent sévir parmi les chenilles d'espèces nuisibles, comme **Lymantria monacha, L. dispar** et causer une mortalité qui dépasse souvent celle engendrée par les autres auxiliaires. En général, la transmission d'individu à individu se fait par la voie intestinale ; nous avons vu qu'il suffisait d'un repas infectant pour déclencher les processus de pseudo-grasserie chez les chenilles de Piéride ; nous avons vu aussi que les Vers à soie qui ingèrent une goutte de contenu intestinal centrifugé de ver atteint de gattine contractent cette même maladie ; la transmission de la grasserie par la voie intestinale peut être également démontrée expérimentalement.

L'évolution de la maladie transmise naturellement ou artificiellement est soumise à l'influence d'un certain nombre de facteurs externes. On a montré depuis longtemps que l'évolution des maladies à polyèdres est d'autant plus rapide que la température extérieure est plus élevée. D'après ESCHERICH et MIYAJIMA, l'insolation prolongée (rayons réfléchis pendant deux heures sur chenilles de **L. monacha** atteintes de « Polye-

derkrankheit ») détermine un développement rapide des polyèdres ; le froid serait aussi un facteur accélérateur : ainsi en plaçant quelque temps sur de la glace des chenilles contaminées, Escherich et Miyajima auraient constaté que le cours de la maladie est semblable à celui des chenilles insolées.

J'ai montré, par des expériences de laboratoire, que la durée totale d'évolution de la grasserie peut varier dans de très grandes limites suivant le degré de la température ambiante : alors que les symptômes externes se manifestent dès le sixième jour chez les Vers à soie contaminés artificiellement et placés à une température moyenne de 25° C, ils ne sont pas encore perceptibles 15 jours après l'inoculation chez les vers placés à une température moyenne de 16-17° C.

L'action des courants d'air est plus douteuse que celle de la température ; on a bien observé parfois que les Vers à soie atteints de grasserie sont plus nombreux dans les parties des magnaneries exposées directement à l'action des courants d'air que dans les parties abritées, mais ce n'est pas là une preuve de l'influence du courant d'air sur la marche de la maladie. On peut d'ailleurs donner une toute autre explication de ce fait : les vers malades se déplacent beaucoup plus que les vers normaux ; l'obstruction plus ou moins complète des vaisseaux trachéens détermine un commencement d'asphyxie contre laquelle l'Insecte réagit en se déplaçant vers les points les mieux aérés ; la même hypothèse a été émise pour expliquer l'émigration, vers les parties supérieures des arbres, des chenilles de **L. monacha** atteintes de « Polyederkrankheit » ; d'où le nom de « Wipfelkrankheit » sous lequel on désigne habituellement la maladie en Allemagne.

L'action de la température sur l'évolution de la maladie à inclusions des Piérides n'est pas aussi marquée que sur celle des maladies à polyèdres. J'ai pu constater cependant que les symptômes caractéristiques de la maladie apparaissent d'autant plus rapidement que la température ambiante est plus élevée. Contrairement à ce qui se passe dans la grasserie, la maladie des Piérides évolue très bien en-dessous de 18° C. L'évolution paraît suspendue lorsque la température ambiante descend au-dessous de + 8°C.

La transmission des maladies à polyèdres de génération à génération a lieu soit par l'intermédiaire de l'œuf, soit par le virus conservé d'une année à l'autre dans les lieux où vivent les Insectes qui en sont atteints.



L'observation montre que les épidémies de grasserie ont souvent pour origine les poussières de magnaneries contaminées au cours de l'année précédente. Des épidémies particulièrement violentes déciment parfois certains élevages dès les premières mues alors que les poussières ne peuvent être incriminées. Dans ce cas, l'origine de l'épidémie doit être cherchée dans le virus transmis à l'œuf par la mère. Les faits d'expériences comme ceux d'observation, montrent que le virus peut infecter l'œuf. En contaminant **per os** en fin d'éducation des Vers à soie normaux, certains des papillons qui éclorent du lot contaminé présentaient les lésions de grasserie. On transmet de même la maladie des chenilles à l'Insecte parfait par simple inoculation de sang infecté dans la cavité générale. L'ultravirus qui se développe dans le corps des femelles passe dans l'œuf où on peut l'apercevoir, bien que difficilement, à l'ultramicroscope.

Dans le cas de la maladie à inclusions des chenilles de Piérides, je n'ai pu démontrer la transmission héréditaire de l'ultravirus ; mais les faits d'observation sont en faveur de cette hypothèse. Les chrysalides sont atteintes de la maladie comme les chenilles; il est vraisemblable que les papillons, eux aussi, peuvent héberger le parasite.

La gattine et la flacherie vraie se transmettent surtout par la voie intestinale. Nous avons vu précédemment que la résistance de l'ultravirus aux agents extérieurs est beaucoup plus grande que celle des Bactéries ordinaires, en particulier des Bactéries non sporulées. Cette résistance est telle que le virus qui souille les poussières d'une magnanerie à la suite d'une sévère épidémie, peut engendrer, l'année suivante, une nouvelle épidémie de même gravité que la précédente. Ainsi s'explique que certains éducateurs enregistrent constamment les mêmes échecs par flacherie depuis de longues années.

L'infection par la graine est heureusement assez rare aujourd'hui grâce aux mesures sévères prises par les graineurs pour écarter les lots de cocons provenant d'éducations défectueuses ; mais elle peut se produire. Déjà Pasteur avait constaté que les vers provenant d'œufs pondus par des papillons atteints de flacherie étaient prédisposés à la maladie. A proprement parler, étant donné ce que nous savons maintenant de la cause des dysenteries infectieuses, on ne saurait parler de prédisposition, mais bien plutôt d'infection des œufs par l'ultravirus.

## L'IMMUNITÉ DANS LES MALADIES A ULTRAVIRUS

On ne sait pour ainsi dire rien sur les processus réactionnels qui se déroulent dans l'organisme des Insectes contaminés par les ultravirus, ni sur la manière dont ils s'immunisent contre eux. Chez l'Homme et les autres Vertébrés supérieurs, une première atteinte de maladie infectieuse confère généralement une immunité très solide contre le virus qui en est la cause. Il est donc vraisemblable que les Insectes doivent se comporter d'une manière semblable contre leurs parasites ultramicrobiens. Malheureusement, les constatations faites jusqu'à ce jour ne permettent pas encore de l'affirmer. Les expériences que j'ai faites en 1931 ont montré que le vieillissement atténue la virulence du parasite de la gattine, mais elles n'ont pu démontrer que les vers infestés avec virus atténué sont immunisés contre le virus frais.

Ayant conservé en tube capillaire scellé le contenu intestinal centrifugé d'un Ver à soie infecté le 21 juin 1929 avec ultravirus seul, j'ai fait ingérer une goutte de liquide le 10 juin 1931 à vingt Vers à soie prélevés dans un petit élevage de laboratoire parvenu à la fin du troisième âge. A aucun moment, les vers en expérience n'ont présenté de symptôme visible de maladie intestinale ; aucun d'eux, en particulier, n'a été atteint de diarrhée. Le 18 juin, un des vers a été sacrifié pour examen cytologique de la paroi épithéliale du mésointestin postérieur ; appliquant la méthode rapide décrite plus haut, j'ai constaté que le noyau d'un certain nombre de cellules épithéliales présentait les lésions caractéristiques de la gattine. D'après les caractères des lésions et leur importance, on peut déduire que les processus cytopathologiques ont commencé de se manifester depuis peu de temps ; la période d'incubation apparaît ainsi sensiblement plus longue que dans le cas où l'on utilise comme matériel infectant du contenu intestinal frais. Les mêmes lésions, mais plus étendues et plus profondes, ont été mises en évidence sur les vers prélevés les 20, 21 et 23 juin ; à aucun moment, je n'ai constaté de multiplication anormale du **Streptococcus bombycis** dans le contenu intestinal alors qu'en temps d'épidémie naturelle ou artificielle, cette multiplication est de règle 7 à 9 jours après le début de l'infection.

Le 26 juin, deux vers seulement restaient en expérience et ne se différenciaient nullement des vers de l'élevage témoin d'où ils avaient



été prélevés. Tous deux ont été sacrifiés ; l'examen cytologique de la paroi épithéliale du mésointestin postérieur a révélé l'existence de lésions nucléaires moins étendues et moins graves que dans les vers examinés précédemment : il s'agit là d'une attaque bénigne de maladie à ultravirus seul et qui paraît en voie de guérison. On peut supposer que cette attaque bénigne due à l'emploi d'un virus affaibli par deux ans d'exposition à l'air, immunise les vers contre le virus provenant d'une épidémie récente ; mais la démonstration n'a pu être faite en raison du manque de matériel. Il y aurait donc lieu de reprendre l'étude de cette question de l'immunisation des Insectes contre les maladies à ultravirus.

L'absence de multiplication anormale du **St. bombycis** dans le contenu intestinal pendant l'évolution de la maladie causée par l'ultravirus atténué, est un sérieux argument en faveur de la dualité d'origine de l'ultravirus et du Streptocoque. L'hypothèse d'une communauté d'origine d'un virus filtrant et d'un microbe peut être envisagée ; on sait en effet, et nous reviendrons sur cette question en étudiant les maladies bactériennes, que certains microbes donnent régulièrement naissance, au cours de leur évolution, à des formes invisibles semblables aux ultravirus. Dans le cas qui nous occupe, l'ultravirus de la gattine ne peut être considéré comme la forme filtrante du Streptocoque ; introduits dans l'organisme sain du Ver à soie, ils déclenchent l'un et l'autre des processus morbides très particuliers qui correspondent à des entités morbides bien déterminées. D'autres faits récemment observés confirment d'ailleurs cette manière de voir : ainsi des Vers à soie de même provenance que ceux expérimentés précédemment et élevés dans de mauvaises conditions hygiéniques ont présenté les symptômes de pseudo-flacherie avec multiplication anormale des différentes Bactéries intestinales, en particulier du Streptocoque. Dans aucun cas, cependant, je n'ai pu constater l'existence des lésions caractéristiques de la gattine. Maladie à ultravirus et pseudo-flacherie à Streptocoques sont donc deux entités morbides essentiellement différentes et qui peuvent évoluer séparément; mais alors qu'il suffit de la présence de l'ultravirus pour déclencher les processus caractéristiques de la première, l'évolution de la seconde exige l'action préalable d'autres facteurs ; en général, dans la pratique, c'est l'action pathogène de l'ultravirus qui conditionne celle du Streptocoque.

QUATRIÈME PARTIE

# L'INFECTION BACTÉRIENNE

CHAPITRE X

# Considérations générales et historiques.

On admet généralement que le rôle des infiniment petits dans l'étiologie des maladies infectieuses est connu seulement depuis les travaux de Pasteur. Cependant, des observateurs sagaces avaient déjà eu l'intuition du rôle des microbes dans certaines de ces maladies. Dès 1850, DAVAINE signalait la présence constante d'une Bactérie en forme de bâtonnet dans le sang des Moutons atteints de charbon, mais il la considérait alors comme un témoin et non comme la cause de la maladie. Les découvertes de PASTEUR sur les fermentations eurent pour principale conséquence d'orienter la médecine dans une voie extrêmement féconde et d'élucider le problème de l'étiologie des maladies infectieuses de nature bactérienne. L'idée de comparer les processus infectieux aux processus fermentatifs est déjà ancienne. DAVAINE, éclairé par le travail de PASTEUR sur la fermentation butyrique, eut l'idée de rechercher si les Bacilles trouvés dans le sang des Moutons charbonneux n'étaient pas la cause même de la maladie, comme le ferment butyrique de Pasteur est la cause première de la fermentation butyrique. Les expériences de DAVAINE constituent la première démonstration scientifique du rôle des Bactéries dans les maladies infectieuses. La possibilité d'obtenir en culture pure les microbes isolés des tissus d'organismes en

état d'infection et de reproduire expérimentalement les principales maladies infectieuses par introduction des microbes de culture dans les organismes sains a permis de démontrer le rôle étiologique des microbes dans ces maladies.

L'importance du facteur microbien dans les maladies infectieuses bactériennes est telle qu'on peut définir celles-ci par le microbe lui-même. Ainsi la diphtérie, la fièvre typhoïde peuvent être diagnostiquées sûrement par les Bactéries qui en sont la cause et qu'on retrouve constamment en certains points de l'organisme au cours de l'évolution de ces maladies. La recherche du microbe qui représente la cause morbide des infections n'est pas toujours aussi facile et il arrive souvent qu'on ne peut le mettre en évidence par les procédés ordinaires de laboratoire.

Chez les Insectes par contre, la pullulation des Bactéries dans l'organisme est telle qu'on n'éprouve aucune peine à les isoler. Il arrive souvent cependant que des infections secondaires masquent plus ou moins l'infection principale et faussent le résultat de l'examen bactériologique. Ces infections secondaires se produisent fréquemment d'ailleurs chez l'Homme et modifient plus ou moins le cours de la maladie principale. Notons également que l'association de deux ou plusieurs espèces microbiennes modifie en général l'action pathogène de chacune d'elles.

Quand j'ai commencé l'étude des maladies bactériennes des Insectes, on ne connaissait qu'un très petit nombre de Bactéries entomophytes. Les auteurs qui les ont étudiées n'en ont d'ailleurs donné qu'une diagnose très insuffisante et bien souvent, on est dans l'impossibilité de déterminer les espèces isolées d'un Insecte particulier avec celles décrites antérieurement. Cette difficulté d'identification n'est pas spéciale aux microbes entomophytes : elle se présente très souvent quand il s'agit de déterminer un microbe nouveau, tout au moins un de ceux qu'on peut avoir l'occasion de rencontrer en dehors du corps de l'homme ou des animaux domestiques.

La plupart des travaux relatifs aux maladies bactériennes des Insectes concernent les Insectes utiles : Abeille et Ver à soie. La pathologie de ces Insectes a donné lieu à des travaux nombreux et importants, mais dans le détail desquels nous ne pouvons entrer ici. Je résumerai brièvement l'état de nos connaissances sur ces maladies, renvoyant le lecteur aux traités spéciaux consacrés à leur étude.



La plus répandue des maladies bactériennes des Abeilles est sans contredit la Loque dite « américaine » dont la cause est un Bacille mobile sporulé, le **Bacillus larvæ**, non cultivable sur les milieux ordinaires employés en bactériologie mais qui pousse assez bien sur agar additionné de jaune d'œuf ou de filtrat de larves broyées.

La loque dite « européenne » est également de nature bactérienne mais les auteurs ne sont pas d'accord sur l'espèce qui doit être incriminée. Les Américains avec White incriminent le **Bacillus pluton** dont les éléments se présentent sous forme de cocci plus ou moins allongées à extrémités souvent accuminées ; les autres espèces qui se rencontrent généralement dans l'organisme des larves malades (**Bacillus alvei, Bacterium eurydice, Streptococcus apis**) ne seraient que des microbes d'infections secondaires. D'après les Allemands, le **Strept. apis** serait l'agent de la « Sauerbrut », **Bac. alvei**, celui de la « Faulbrut » et **B. larvæ**, celui de la « Brutpest ».

Nous avons vu précédemment les diverses opinions émises sur les maladies bactériennes du Ver à soie. J'ai montré que le rôle joué par les Bactéries est beaucoup moins important qu'on ne le croyait et que la véritable cause morbide des dysenteries infectieuses est un ultravirus. **Strept. bombycis** et **Bac. bombycis** ne sont que des « microbes de sortie » dont la multiplication est conditionnée par le parasitisme de l'ultravirus.

Les travaux relatifs aux maladies bactériennes des Insectes nuisibles sont relativement peu nombreux et peu importants. On peut distinguer deux périodes : la première qui s'étend jusqu'en 1911 et la période actuelle.

Dès 1879, Metchnikof, étudiant la « Muscardine verte » des larves d'**Anisoplia austriaca**, avait montré que beaucoup de ces larves mouraient à la suite d'une infection bactérienne causée par **Bacillus salutarius** ; mais il ne fit pas une étude approfondie de la maladie et n'envisagea pas l'utilisation du Bacille dans la lutte contre les larves d'**Anisoplia.** Vers la même époque, Forbes signalait dans l'Illinois l'existence d'une maladie du « Chinch bug » (**Blissus leucopterus** Say.) causée par un Micrococque ; comme l'auteur précédent, Forbes se contenta de fournir l'indication de la maladie sans donner de détails particuliers sur son évolution ni sur le microbe lui-même.

Enfin en 1894, Krassilstchick publiait un travail assez complet sur deux maladies bactériennes des larves du Hanneton : l'une la graphytose caractérisée par la couleur plombée du corps au moment de la mort ;

l'autre, la septicémie, caractérisée par la nuance brune plus ou moins foncée de la peau. La première a pour cause un court Bacille mobile sporulé : **Bac. tracheitis sive graphitosis** Kras. ; la deuxième, **Bac. septicus insectorum,** Kras. On peut faire remarquer dès maintenant que la septicémie n'est pas une forme de maladie caractéristique, la plupart des maladies bactériennes affectant cette forme chez les Insectes. De même le noircissement du corps après la mort est un phénomène très général.

La deuxième période débute avec la première publication de d'Herelle sur un Coccobacille des Criquets du Mexique (**Schistocerca pallens** Scud.) isolé au cours d'une épidémie naturelle et capable d'infecter **per os** ces Insectes. Il serait ainsi possible, d'après l'auteur, de créer de véritables épidémies artificielles et de lutter, par ce moyen, contre les invasions de Criquets. Des résultats positifs auraient été obtenus par cet auteur au Mexique, en Argentine, en Tunisie ; l'emploi du Coccobacille aurait également donné de bons résultats dans d'autres régions ; par contre, un certain nombre d'expérimentateurs sont beaucoup moins affirmatifs et doutent de la possibilité de créer des épidémies artificielles parmi les Criquets. Quoi qu'il en soit, la méthode proposée par d'Herelle paraît abandonnée aujourd'hui. **Coccobacillus acridiorum** n'est pas le seul Coccobacille susceptible d'infecter les Criquets ; un certain nombre d'expérimentateurs, en particulier : Et. Sergent en Algérie, Velu et Bouin au Maroc, ont signalé l'existence d'épidémies naturelles autochtones causées par des Coccobacilles du même groupe que celui de d'Herelle. Mais aucune étude systématique de ces différentes Bactéries n'ayant été faite, il est difficile de savoir si l'on a affaire à de simples races du **C. acridiorum** ou à de véritables espèces. Glaser, dans un travail publié en 1918, attire l'attention sur l'existence possible de plusieurs espèces différentes toutes désignées sous le même nom de **C. acridiorum.** Cet auteur a eu en mains un certain nombre de souches de soi-disant Coccobacilles des Criquets dont les propriétés biochimiques diffèrent essentiellement les unes des autres ; il a étudié entre autres deux souches envoyées par d'Herelle lui-même et désignées sous les noms de « Cham » et de « Sidi » ; or les propriétés de culture sur différents milieux correspondaient certainement à deux espèces différentes ; parmi les autres souches, l'une provenant du Honduras doit être séparée de toutes les autres aussi bien génériquement que spécifiquement ; elle est étudiée par Glaser sous le nom de **Bacillus poncei.** Une des souches a été envoyée par Du Porte et Vanderleck qui ont fait des expériences



d'infestation de Criquets au Canada avec le Coccobacille de d'Herelle ; les propriétés biochimiques, d'après les cultures de Glaser, diffèrent essentiellement de celles publiées par les deux auteurs Canadiens. Que conclure de ces faits ? « Only this, namely, that different organisms are being distributed under name of **Coccobacillus acridiorum** ».

Les publications de d'Herelle ont servi de point de départ à une série de recherches sur les parasites bactériens entomophytes, en particulier sur les Coccobacilles. Ainsi Chatton, en étudiant l'action pathogène du **C. acridiorum** sur le Hanneton commun, a pu observer qu'un certain nombre d'individus provenant d'Auvergne et du Jura, mouraient spontanément avant toute inoculation ; la cause de cette épidémie naturelle était due à un Coccobacille très voisin morphologiquement de celui des Criquets dont la présence dans le sang et le contenu intestinal est facile à constater. Chatton a décrit sommairement ce Bacille sous le nom de **B. melolonthæ.** Le même auteur a observé et étudié une « Coccobacillose » spontanée du Ver à soie causée par un autre Coccobacille voisin, le **Bacillus bombycis,** qu'il ne faut pas confondre avec le Bacille sporulé de Pasteur désigné sous le même nom. Picard et Blanc ont étudié de même une Bacillose des chenilles de **Lymantria dispar** et de **Chelonia caja** et décrit : **Bacillus lymantriæ** et **B. cajæ.** Moi-même, en 1913, j'ai isolé de chenilles de **Gortyna ochracœa** Hb. et **Pyrameis cardui L.** des Coccobacilles auxquels j'ai donné les noms de **B. gortynæ** et **B. pyrameis** I et II.

En outre des Coccobacilloses, on a signalé l'existence d'un certain nombre de maladies infectieuses causées par diverses Bactéries très différentes des Coccobacilles. Northrup, en 1914, isolait des larves malades de **Lachnosterna** sp., un Microcoque pathogène pour ces larves : **Micrococcus nigrofaciens,** colorable par la méthode de Gram. Ce Microcoque se rapprocherait donc des Staphylocoques. Les caractéristiques de la maladie qu'il provoque seraient les mêmes que celles observées en Russie, en 1893, par Krassilstschick. Une autre espèce voisine de celle de Northrup, mais dont les éléments restent généralement accolés les uns aux autres pour former des chaînettes, a été découverte en 1918 par Glaser dans le corps de chenilles de **L. dispar** provenant d'œufs envoyés du Japon. Cette espèce que Glaser a étudiée sous le nom de **Streptococcus disparis,** serait capable, dans certaines conditions, de provoquer la création d'épidémies artificielles. Dufrenoy étudiant les maladies bactériennes des chenilles processionnaires du Pin (**Cnetho-**

**campa pityocampa** Schiff.) a isolé trois espèces de Bactériacées parasites : **Bacterium pityocampæ** non colorable par la méthode de Gram et encapsulé ; **Strept. pityocampæ** α, colorable par la méthode de Gram et formé d'éléments assemblés en chaînettes mobiles; **St. pityocampæ** β, non colorable par cette même méthode. On peut s'étonner que Dufrenoy ait cru devoir donner le même nom générique à ces deux dernières espèces ; il y a lieu de s'étonner aussi que la première espèce, formée de chaînettes mobiles, soit rangée dans le genre Streptocoque, alors que les espèces de ce genre sont dépourvues de motilité. On voit par ces divers exemples quelle confusion règne encore dans la systématique des Bactéries.

La conclusion qui paraît se dégager des travaux relatifs aux divers Coccobacilles d'Insectes est que ces Bactéries sont considérées comme formant un groupe assez homogène dont chaque type particulier représenterait un parasite déterminé d'une espèce d'Insecte déterminée. Hollande et Vernier, à propos d'une communication qu'ils ont faites en 1920 sur un Bacille pathogène du sang des chenilles de **Malacosoma castrensis** L., ont même cru devoir considérer les Coccobacilles entomophytes comme de simples variétés d'un type commun : le **Bacillus insectorum** dont la diagnose serait la suivante : « Bacilles plus ou moins mobiles ayant une forme courte, plus allongée dans le sang de l'Insecte qu'en culture, à corps se colorant plus fortement aux deux extrémités ; réaction Gram négative ; production plus ou moins accentuée d'un pigment vert fluorescent sur bouillon en présence de l'air ; liquéfaction de la gélatine et protéolyse du sérum de cheval gélifié ; l'action diastasique sur les sucres et la virulence pour tel ou tel Insecte pouvant varier suivant les races étudiées ». C'est aller un peu loin dans la simplification d'une question dont la caractéristique principale est précisément la complexité. L'erreur commise par Hollande et Vernier est plus grave, à mon avis, que celle mise en évidence par Glaser au sujet de l'emploi abusif du nom de **Coccobacillus acridiorum** pour désigner les différentes espèces qui ont été rencontrées chez les Criquets. Elle peut conduire à d'autres erreurs plus graves encore surtout lorsqu'il s'agit d'utilisation des Bactéries entomophytes dans la lutte contre les Insectes nuisibles.

Mes recherches sur le parasitisme bactérien des Insectes ont abouti à cette conclusion qui pouvait être prévue d'avance : la flore microbienne des Insectes ne le cède en rien, pour la richesse et la variété,



à celle des Vertébrés supérieurs. Chez le Hanneton adulte, huit Coccobacilles différents ont été isolés, un Bacille sporulé, un Bacille gram-positif dont les éléments sont généralement disposés par deux et un Diplocoque gram-positif ; chez les chenilles de **Lymantria dispar,** j'ai pu étudier trois espèces différentes de Coccobacilles dont l'espèce de Picard et Blanc, un Bacille et un Diplocoque gram-positifs. La flore bactérienne des chenilles de **Pieris brassicæ** est plus riche encore : elle ne comprend pas moins de six espèces de Coccobacilles, une espèce de Diplocoque gram-positif, deux espèces de Bacilles gram-positif et un Vibrion rencontré seulement chez les chenilles parasitées par un Hyménoptère (**Apanteles glomeratus**). Je n'ai mentionné qu'une espèce de Coccobacille parasite du Ver à soie et un Diplocoque différent du **St. bombycis ;** mais j'aurais pu étudier un grand nombre d'autres espèces rencontrées dans le tube intestinal et même dans la cavité générale de vers en état de dysenteries non infectieuses. Parmi les Hyménoptères, les larves de **Neurotoma nemoralis,** qui causent certaines années de très grands dégâts dans les plantations de Pêcher et de Prunier, ont été reconnues parasitées par un Bacille allongé gram-négatif et par un Coccus également gram-négatif. L'étude des parasites microbiens des chenilles de la Pyrale du maïs par Metalnikov et Chorine a permis d'isoler un assez grand nombre d'espèces nouvelles plus ou moins pathogènes pour cet Insecte et dont quelques-unes pourraient être utilisées comme auxiliaires dans la lutte contre ce ravageur.

Une autre conclusion d'ordre général qui résulte de mes observations propres, c'est que les espèces bactériennes d'un Insecte déterminé varient dans le temps et dans l'espace ; les plus répandues appartiennent au groupe des Coccobacilles. Bien qu'elles soient très répandues, les Bactéries entomophytes ne semblent pas jouer un rôle très important dans la destruction naturelle des Insectes. Beaucoup d'entre elles ne se multiplient dans l'organisme qu'à la faveur d'une infection d'une autre nature (ultramicrobienne par exemple) ou après lésion accidentelle de certains tissus ou organes ; souvent aussi, l'infection microbienne est une conséquence du parasitisme de certains Insectes ou Invertébrés divers ; c'est le cas notamment pour les chenilles de **Pieris brassicæ.**

CHAPITRE XI

# Les Bactéries entomophytes.

Article I

## ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES BACTÉRIES

Pour être en mesure d'étudier expérimentalement une maladie bactérienne, la première condition à réaliser, c'est d'isoler la Bactérie qui en est la cause et de la cultiver à l'état pur. L'isolement consiste à séparer les éléments microbiens les uns des autres de manière à obtenir des colonies microbiennes isolées à partir de chacun d'eux. Deux méthodes principales peuvent être utilisées pour séparer les Bactéries :

1° Étant donné un liquide plus ou moins souillé de Bactéries, on prélève une goutte que l'on ajoute à 10 centimètres cubes d'eau physiologique stérile ; on prélève ensuite une goutte du nouveau mélange et on l'ajoute à 10 cc. d'eau physiologique stérile ; l'opération est répétée un certain nombre de fois jusqu'à ce que la dernière émulsion ne renferme qu'un très petit nombre d'éléments microbiens. Si l'on ensemence plusieurs tubes de bouillon de viande chacun avec une goutte de cette émulsion et que la culture soit positive dans un certain nombre de tubes seulement, on peut admettre que ceux-ci auront été ensemencés avec un seul élément microbien.

2° L'isolement sur milieu solide est employé plus couramment dans les laboratoires que le procédé de séparation en milieu liquide. On peut

diluer par exemple le liquide infecté et ensemencer une large surface de milieu nutritif à base de gélose avec une goutte de l'émulsion ; si la dilution est suffisante, les éléments microbiens sont assez espacés les uns des autres pour que les colonies microbiennes qui résultent de leur multiplication soient isolées les unes des autres. On peut employer également un autre procédé plus simple mais aussi plus grossier : on charge un fil de platine de produit infecté, puis on ensemence en surface un premier tube de gélose inclinée ; un deuxième tube est ensemencé sans recharger le fil de platine, puis, un troisième tube ; en général, les colonies qui poussent sur le troisième tube sont peu nombreuses et bien isolées les unes des autres ; on peut admettre que chacune d'elles a pour origine un seul élément microbien. L'isolement peut être considéré comme suffisant si la majorité des colonies présentent toutes le même aspect extérieur.

La reproduction de la maladie avec tous ses symptômes par introduction dans l'organisme sain de microbes de culture pure, démontre le rôle étiologique de ceux-ci. Quand il s'agit d'Invertébrés, l'injection est faite dans la cavité générale et donne toujours les mêmes résultats. Dans le cas des Vertébrés, au contraire, le lieu et le mode de pénétration dans l'organisme jouent un rôle important dans le déclenchement des processus morbides ; le faciès de la maladie peut varier dans de très grandes limites suivant que le microbe est introduit sous la peau, dans les veines, sous le péritoine, dans les centres nerveux.

La première question qui se pose lorsqu'on a isolé une Bactérie et qu'on a reconnu son pouvoir pathogène pour les animaux de même espèce que celui d'où il a été retiré, c'est de l'identifier avec d'autres Bactéries parasites déjà étudiées ou avec des saprophytes. Malheureusement l'identification est rendue très difficile par l'insuffisance des caractères spécifiques et par leur instabilité ; on ne peut songer en effet à classer des êtres aussi primitifs que les Bactéries comme on classe des animaux ou des végétaux beaucoup plus évolués. Il y a près de vingt-cinq ans, GRIMBERT s'élevait déjà contre le manque de bases précises dans l'évaluation des caractères spécifiques des microbes : « La plupart des traités qui s'occupent du diagnostic des Bactéries ne sont que des catalogues où celles-ci viennent se ranger par ordre alphabétique sous le nom que leur a imposé le bactériologiste qui les a découvertes ou qui a cru les découvrir. La description de leurs caractères, ne suivant aucun



plan arrêté, offre les variations les plus déconcertantes. Tantôt l'auteur s'attache à la morphologie qu'il décrit avec complaisance, laissant dans l'ombre certaines particularités biologiques qu'il eût été intéressant de connaître. Tantôt, l'aspect des cultures retient seule son attention ; il note avec force détails les nuances les plus fugitives d'un bouillon qui se trouble ; il nous fait assister par toutes les phases par où passe une colonie sur gélatine en voie de liquéfaction, mais sans nous dire jamais si le Bacille en question attaque l'albumine ou les hydrates de carbone ». En conclusion de ses critiques, GRIMBERT souhaite « voir une entente s'établir entre tous les bactériologistes pour adopter une marche méthodique unique dans la description des bactéries, en ayant soin de bien spécifier les conditions des expériences ». L'entente est à peu près réalisée aujourd'hui ; le plan d'études et les systèmes de classification proposés par le Comité américain en 1924 sont adoptés par la majorité des bactériologistes. L'identification des genres est ainsi rendue assez facile. Partant de ces données, il y a lieu de modifier la nomenclature des espèces de Bactéries entomophytes étudiées jusqu'à ce jour. Ainsi le Coccobacille isolé des Vers à soie par CHATTON devra prendre le nom de **Bacterium bombycis,** celui de **Bacillus bombycis** étant réservé au Bacille sporulé étudié par PASTEUR ; de même, tous les autres Coccobacilles décrits jusqu'ici rentreront dans le genre **Bacterium.**

On admettait généralement, il y a quelques années, qu'une même espèce d'Insectes n'était parasitée que par un nombre limité d'espèces microbiennes : c'est ainsi qu'on a décrit **Bacillus (Bacterium) acridiorum, Bacillus (Bacterium) lymantriæ, B. cajæ,** etc., comme s'il n'existait en réalité qu'une espèce adaptée au Criquet, aux chenilles de **L. dispar** et à celles de **Chelonia caja.** Or nous avons vu que le nombre des espèces bactériennes entomophytes est illimité et que celles qui s'attaquent à un Insecte déterminé peuvent varier dans le temps et dans l'espace. La règle adoptée n'a donc plus de raison d'être ; mais alors quelle règle suivre ? En l'état actuel de nos connaissances, aucune réponse précise ne peut être faite à cette question : en effet, la systématique, au sens où on l'entend en botanique ou en zoologie, est à peu près inexistante en bactériologie ; la notion d'espèce, base de toute classification, n'a pas encore de signification précise lorsqu'il s'agit de Bactéries. On reconnaît qu'il existe des types assez bien caractérisés autour desquels viennent se ranger un nombre plus ou moins considé-

rable de races ou variétés ; on constitue ainsi des groupements dont les limites sont très imprécises et qui varient d'ailleurs suivant les auteurs. On peut citer comme exemples : les groupes du Bacille typhique, du **Bacillus enteritidis** (auquel appartiennent la plupart des espèces pathogènes pour les Mulots et Campagnols), les Corynébactéries, etc. Ces groupements ne sont d'ailleurs nullement comparables aux groupements similaires constitués chez les êtres mieux organisés, car les caractères sur lesquels on se base pour établir des rapprochements sont plus ou moins constants. D'ailleurs on admet généralement qu'un type déterminé de Bactérie peut évoluer et cette continuelle évolution représente un caractère essentiel des microbes en général (nous en citerons des exemples typiques dans la suite de cet ouvrage) ; l'absence de véritables caractères dominants et surtout, le manque de données d'ensemble sur les Bactéries rencontrées jusqu'ici dans les différents milieux vivants ou non, sont autant de raisons qui expliquent l'insuffisance de la systématique en bactériologie.

On emploie couramment en bactériologie une méthode d'identification qui donne des résultats plus sûrs que la méthode basée uniquement sur les caractères morphologiques et biochimiques : c'est le sérodiagnostic dont il existe plusieurs procédés tous basés sur la spécificité des réactions d'immunité. Je n'insisterai pas ici sur le principe et les règles d'application de cette méthode dont la compréhension nécessiterait de longues explications sur le mécanisme de l'immunité ; je reviendrai d'ailleurs sur ce sujet en étudiant l'immunité antibactérienne.

J'ai eu fréquemment recours à cette méthode pour différencier et identifier les Coccobacilles rencontrés chez les individus d'une même espèce d'Insecte. Des Lapins étaient immunisés contre chaque espèce bactérienne présumée par injections répétées d'émulsions microbiennes dans la veine marginale de l'oreille ; le sérum acquiert ainsi des propriétés agglutinantes vis à vis du Bacille contre lequel ils ont été immunisés. Par exemple, un Lapin a reçu le 10 novembre une première injection de 5 cent. cubes de culture en bouillon de 24 heures de **B. melolonthæ liquefaciens** β, puis une deuxième de 2 cent. cubes le 16 novembre ; le 25, le sérum du Lapin agglutinait le Bacille β au taux de 1 p. 500, alors qu'il était sans action sur le Bacille α du même Insecte. Le sérum de Lapin immunisé contre le **B. melolonthæ non liquefaciens** β agglutinait ce Bacille au taux de 1 p. 500, mais n'agglutinait pas le Bacille α au taux de 1 p. 10.



## Article 2

## ETUDE MORPHOLOGIQUE DES BACTERIES ENTOMOPHYTES

### FORMES NORMALES

La plupart des Bactéries entomophytes, tout au moins les espèces les plus pathogènes pour les Insectes, appartiennent au groupe des Coccobacilles : ce sont des éléments ovoïdes plus ou moins allongés présentant la coloration bipolaire après action de colorants divers. Ils sont très mobiles et poussent bien sur milieux de cultures ordinaires.

On trouve normalement, dans la cavité générale d'un certain nombre d'espèces de Pucerons, des éléments bactériens semblables aux Coccobacilles et présentant comme eux la coloration bipolaire ; mais ils ne sont pas mobiles et leur forme est généralement plus allongée que celle des Coccobacilles typiques. Nous verrons que ces Bacilles d'infection normale représentent la forme originelle des microorganismes symbiotiques qui existent normalement chez toutes les espèces de Pucerons.

En dehors des Coccobacilles, on rencontre fréquemment des cocci colorables par la méthode de Gram et voisins des Staphylocoques et Streptocoques ; mais ils agissent rarement comme des parasites vrais et accompagnent généralement les Coccobacilles ou d'autres parasites microbiens ou ultramicrobiens. Parmi les espèces les plus connues, citons le **Streptococcus bombycis** considéré pendant longtemps comme l'agent principal de la flacherie du Ver à soie (**sensu lat.**). Des cocci différentes ont été isolées du Hanneton ordinaire, des chenilles de **L. dispar, Pieris brassicæ.** D'autre part, Glaser a étudié en 1918 une maladie des chenilles de **L. dispar** causée par un Streptocoque nouveau, **St. disparis** capable d'infecter **per os** les chenilles.

Les Bacilles sporulés sont assez mal représentés dans la flore bactérienne parasite des Insectes ; leur rôle pathogène est certainement beaucoup moins important que celui des Coccobacilles. En dehors du **Bacillus bombycis** ou « vibrion à noyau » de Pasteur qui accompagne l'ultravirus de la gattine dans la flacherie vraie, on peut citer le Bacille « Sotto » du Ver à soie qui est considéré comme la cause de graves épidémies au Japon mais qui ne semble guère répandu en France ; **Bacillus larvæ,** l'agent de la Loque américaine ; **B. hoplosternus** isolé

de Hannetons. Une espèce sporulée très pathogène pour les chenilles d'**Ephestia kühniella** a été découverte en 1915 par E. Berliner ; le même Bacille est également très pathogène pour les chenilles de la Pyrale du maïs ; il a été utilisé avec succès par Bela Husz dans la lutte contre ce parasite, puis par Metalnikov et Chorine. Ce dernier auteur a isolé, d'autre part, de chenilles de Pyrale provenant du Canada, trois autres espèces de Bacilles sporulés : **Bac. canadensis, B. gibsoni** et **B. ontarioni,** toutes trois très pathogènes pour les chenilles de **Pyrausta** et susceptibles d'être utilisées comme auxiliaires dans la lutte contre ce parasite. Rappelons enfin que Krassilstchick avait isolé en 1894 un Bacille sporulé parasite des larves de Hanneton (**B. tracheitis sive graphitosis**). Le groupe des Vibrions est encore très mal représenté dans la flore bactérienne entomophyte : une seule espèce paraît avoir été signalée jusqu'ici : **Vibrio pieris** que j'ai rencontrée très fréquemment chez les chenilles de **Pieris brassicæ** parasitées par larves d'**Apanteles glomeratus.**

Les Insectes peuvent être enfin parasités par des Bacilles chromogènes ou fluorescents et même par des Bactéries lumineuses. C'est ainsi que H. Pfeiffer et Hans Jurgen Stammer ont décrit en 1931 une maladie des chenilles de **Mamestra oleracea** causée par un Bacille phosphorescent : **Bact. hœmophosphoreum,** pathogène pour beaucoup d'Insectes.

## PLASTICITÉ DE LA CELLULE BACTÉRIENNE

### Variabilité de la forme suivant l'hôte.

Pendant longtemps on a admis, et d'aucuns l'admettent encore, que la forme des Bactéries est immuable ; mais à mesure qu'on pénètre plus avant dans le domaine inexploré de ces microorganismes, à mesure que l'on connaît mieux leur vie dans le temps et dans l'espace, on s'aperçoit que le dogme de la constance des formes n'est pas aussi intangible qu'on le croyait. Certains auteurs, comme Naegeli, ont même cru devoir prendre la contre-partie de ce dogme et n'ont pas craint d'affirmer que la forme des Bactéries est essentiellement variable et même que toutes devaient très probablement dériver d'un type unique. Cette opinion n'a été partagée que par un petit nombre d'auteurs, dont Zopf, par exemple, qui a cru avoir trouvé des preuves suffisantes dans l'étude d'un cas particulier, celui du **Cladothrix dichotoma,** espèce filamenteuse isolée par Cohn d'eaux impures. En fait, aucune preuve décisive n'a



été donnée jusqu'ici en faveur de la thèse extrême de Zopf. Cependant, il est indéniable que la forme de la cellule bactérienne peut se modifier suivant les milieux dans lesquels elle évolue, mais cette modification n'est pas permanente et il suffit de placer la cellule dans le milieu primitif pour lui voir reprendre sa forme normale. Toutes les Bactéries ne présentent pas au même degré la faculté de changer de forme suivant le milieu dans lequel elles végètent : la plasticité de la cellule bactérienne varie en effet suivant l'espèce à laquelle elle appartient.

Mes recherches propres sur les Bactéries entomophytes ont montré que la plupart des Coccobacilles changent plus ou moins de forme suivant l'Insecte dans la cavité générale duquel ils sont inoculés. Pour quelques espèces, ce changement est insignifiant et se traduit tout au plus par un allongement de la cellule ; pour d'autres, le changement est considérable et la cellule prend une forme telle qu'on la croirait appartenir à une espèce différente de celle inoculée. Les cas les plus typiques que j'ai eu l'occasion d'observer sont ceux de **Bact. pieris liquefaciens** $\alpha$, **Bact. melolonthæ liquefaciens** $\gamma$, **Bact. lymantricola adiposus.**

#### 1° Cas de B. pieris liquefaciens $\alpha$.

Dans le sang des chenilles de **Pieris brassicæ,** les éléments bactériens sont de forme coccobacillaire (Fig. 59, **1**) ; ils ne se colorent cependant pas aussi intensément aux deux pôles que certains autres Coccobacilles. Dans le sang des chenilles de **Vanessa urticæ,** L., la forme des éléments ne varie pas sensiblement (Fig. 59, **2**). Dans celui des chenilles

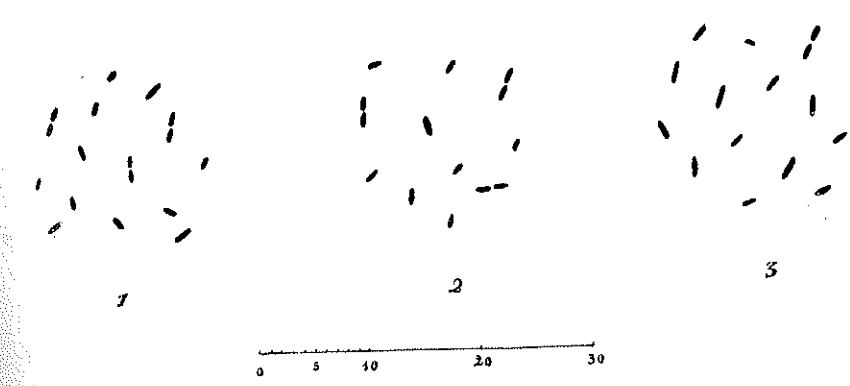



Fig. 59. — B. pieris liquefaciens $\alpha$. — 1, sang de chenille de P. brassicae; 2, sang de V. urticae ; 3, sang de V. polychloros.

de **Vanessa polychloros**, L. (3), la longueur des éléments est sensiblement plus grande que dans le sang des deux autres espèces de chenilles ;

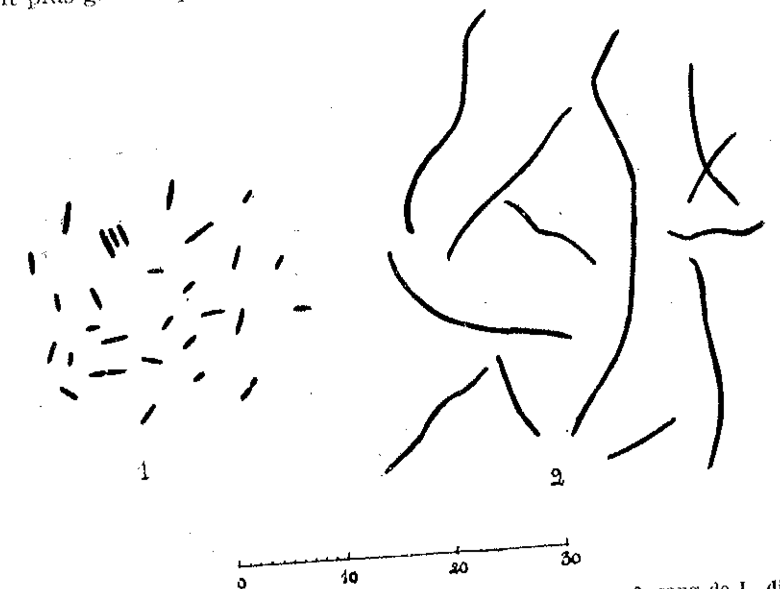



Fig. 60. — **B. pieris liquefaciens** α. — 1, sang d'E. chrysorrhœa, ; 2, sang de L. dispar.

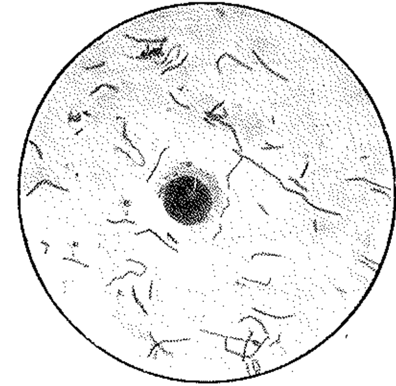


Fig. 61. — **Bac. pieris liquefaciens** α. Formes filamenteuses observées dans le sang de chenilles de **Lymantria dispar**.

on observe de même un allongement des Bacilles dans le sang des chenilles d'**Euproctis chrysorrhœa**, L. (Fig. 60, **1**). Enfin dans celui des chenilles de **L. dispar** (**2**), l'allongement des éléments est tel qu'ils perdent tout à fait l'aspect coccobacillaire et se transforment en véritables



filaments plus ou moins sinueux dont la longueur peut atteindre 40 et

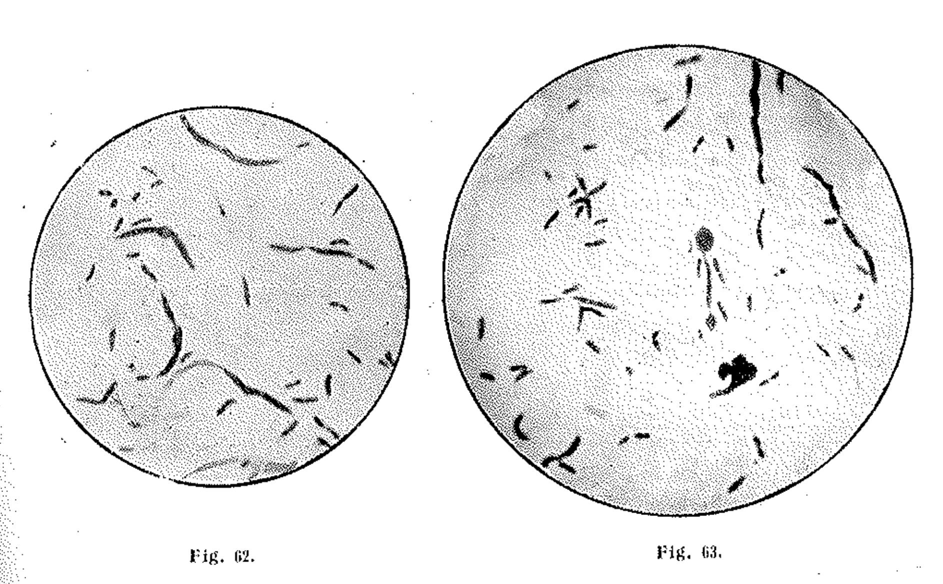



Fig. 62 et 63. — **B. melolonthae liquefaciens** γ. Phases différentes de la transformation des Bacilles normaux en forme de croissances arrondies.

même 50 μ. Cette transformation considérable n'est cependant que superficielle et n'affecte en rien, semble-t-il, la vitalité et les propriétés biochimiques du microbe ; les éléments reprennent leur forme normale dès qu'ils sont inoculés dans la cavité générale des chenilles de Piéride.

### 2° Cas de B. melolonthæ liquefaciens γ.

Dans le sang du Hanneton, des chenilles d'**E. chrysorrhoea** (Fig. 69, **1**), le Bacille se présente sous forme d'éléments coccobacillaires assez allongés à coloration bipolaire assez bien caractérisée parfois ; quelques éléments ont tendance à s'allonger, mais la grande majorité restent courts. Dans le sang des chenilles d'**Agrotis segetum** Schiff. (Fig. 63, **2**), l'allongement des éléments bactériens est la règle ; quelques uns même prennent l'aspect filamenteux. Dans le sang des chenilles de **L. dispar** (Fig. 64, **3**), les éléments changent complètement de forme: au lieu d'être arrondis aux extrémités, ils sont comme étirés ; en même temps leur

épaisseur s'accroît sensiblement ; on observe aussi fréquemment des « formes de croissance », ces formes, qu'il ne faut pas confon-

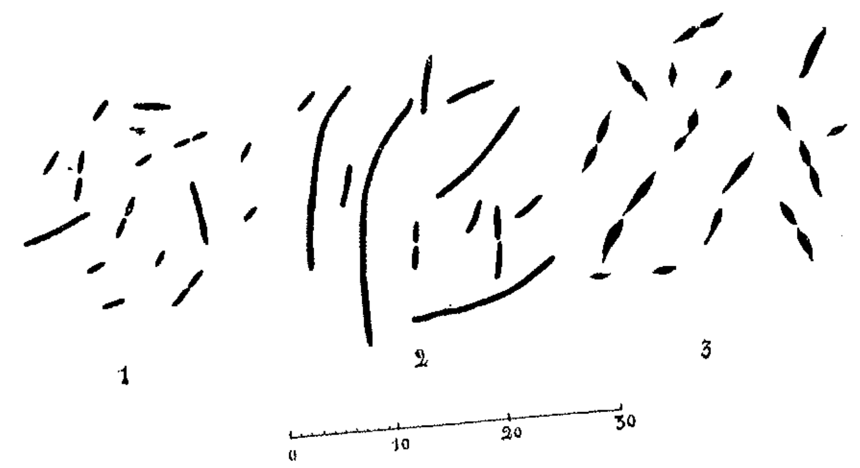



Fig. 64. — **B. melolonthae liquefaciens** γ — 1, sang d'E. chrysorrhœa, 2, sang d'A. segetum; 3, sang de L. dispar.

dre avec les formes d'involution, feront l'objet d'une étude détaillée particulière.

### 3° Cas du B. lymantricola adiposus.

L'étude de ce cas est particulièrement intéressante : les transformations morphologiques du **B. lymantricola adiposus** sont en effet plus profondes que celles des deux autres espèces dont il vient d'être question. En 1917, année où le Bacille a été isolé, la forme normale est celle représentée dans la figure 64. A partir de 1919, le Bacille a tendance à s'allonger ; il prend même l'aspect filamentaux dans le sang des chenilles d'**Agrotis segetum** qui devient filant et visqueux lorsque les chenilles sont en état d'infection avancée. La structure se modifie aussi considérablement : le cytoplasme, homogène pendant les deux premières années, devient ensuite vacuolaire, ce qui donne au Bacille une fausse apparence de Bacille sporulé. L'apparition des formes de croissance, leur faciès, se modifient aussi très sensiblement ainsi qu'on le verra par la suite. Sur les milieux de culture artificiels cependant, la forme est peu modifiée ; mais c'est un fait d'observation courante que la culture sur



milieu artificiel atténue les différences morphologiques. Ainsi les différents Coccobacilles que j'ai isolés au cours de mes recherches sont très difficiles à reconnaître par le seul examen des frottis de culture et cependant, on ne peut guère les confondre lorsqu'on les observe dans le sang même des Insectes qu'ils parasitent. Donc, à ne considérer que

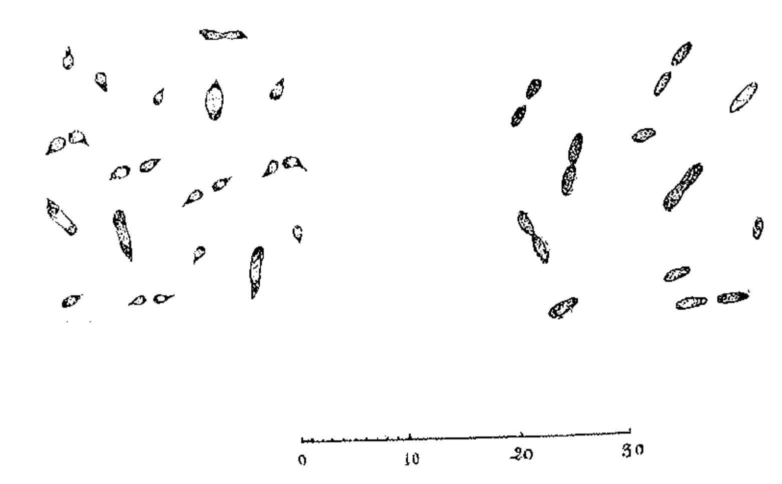



Fig. 65. — **B. lymantricola adiposus.** — 1, sang de L. dispar; 2 sang de Ver à soie.

les microbes de culture, on ne peut dire que le **B. lymantricola adiposus** a réellement évolué depuis son isolement, mais si l'on compare les Bacilles primitifs vivant dans le sang des chenilles de **L. dispar** avec les Bacilles vivant quelques années plus tard dans les mêmes conditions de milieu, on est bien obligé de conclure à une mutation véritable ; des caractères nouveaux et qui paraissent bien fixés sont en effet apparus. L'espèce a évolué morphologiquement et cette évolution est suffisante pour changer complètement le faciès général du Bacille dans le milieu naturel où il a été trouvé. Dans ces conditions, il est logique de considérer les caractères morphologiques des Bactéries en général comme un criterium insuffisant pour la classification de ces microorganismes.

Un autre exemple de mutation a été fourni par **Diplococcus melolonthæ**. Primitivement, ce Coccus se présentait dans les cultures en bouillon sous forme d'éléments arrondis, le plus souvent isolés ou réu-

nis par deux. Deux ans après son isolement, les cultures en bouillon ont complètement changé d'aspect et sont devenues filantes. Cette modification importante correspondait à une modification de la nature même du microbe : en effet, dans les nouvelles cultures, les éléments résultant de la division des coques adhèrent assez fortement les uns aux autres pour donner naissance à de longues chaînettes analogues à celles formées par les Streptocoques. Sans aller jusqu'à assimiler la variation du Diplocoque à une transformation de Staphylocoque en Streptocoque, on peut la considérer néanmoins comme une mutation véritable, susceptible d'infirmer la règle suivie pour nommer la Bactérie.

L'étude méthodique des variations morphologiques éprouvées dans le temps par les différentes Bactéries que j'ai isolées, démontrerait probablement que le nombre des cas de mutation n'est pas limité aux deux exemples que je viens de citer. La plasticité de la cellule bactérienne est, en effet, beaucoup plus grande que celle des autres êtres mieux organisés. Cette plasticité, qui se manifeste aussi bien dans l'espace que dans le temps, n'est pas un des moindres obstacles qui s'opposent à l'établissement d'une classification rationnelle des Bactéries. Elle est aussi une source de confusion dans l'identification des espèces rencontrées dans la nature : beaucoup d'entre elles, en effet, sont décrites sous des noms différents qui, en réalité, ne sont que de simples variations ou mutations d'une même espèce.

## FORMES DE CROISSANCE ET FORMES D'INVOLUTION

Toutes les Bactéries ne sont pas douées au même degré de la propriété de donner naissance à des formes anormales dans les cultures ou dans le corps des Insectes inoculés. Ces formes anormales sont dites **formes de croissance** (« Wuchsformen » des auteurs allemands) lorsqu'elles se produisent dans les milieux neufs ou dans le corps d'êtres vivants contaminés depuis peu ; elles sont dites **formes involutives** lorsqu'elles prennent naissance dans les vieilles cultures sur milieu artificiel. J'ai pu observer assez fréquemment les premières formes dans le sang d'Insectes contaminés par les différentes espèces de Coccobacilles entomophytes que j'ai isolées ; sur milieux de cultures artificiels, par contre, les formes de croissance sont rares.



### 1° Cas de Bacillus liparis.

Normalement, ce Bacille se présente sous forme d'éléments plus ou moins allongés, quelquefois droits, mais le plus souvent légèrement cou-

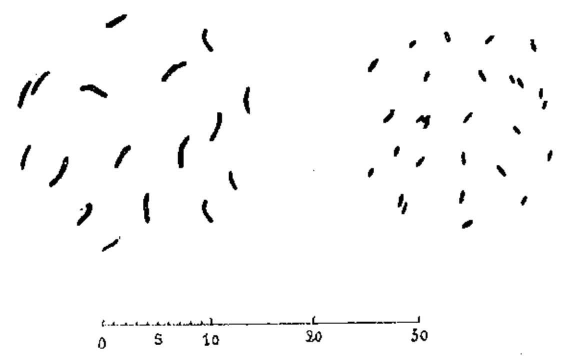



**Fig. 66. — B liparis.** — 1, Bacilles jeunes dans le sang de chenilles de L. dispar ; 2, Bacilles plus âgés dans le sang des mêmes chenilles en état d'infection avancée. (Comparer avec Bacilles diphtériques longs et courts.)

dés dans la partie médiane, comme le Bacille de la diphtérie. Cultivé sur milieux sucrés, en particulier sur gélose-ascite ou lévulosée, il donne naissance, dès les premières heures, à un certain nombre de formes

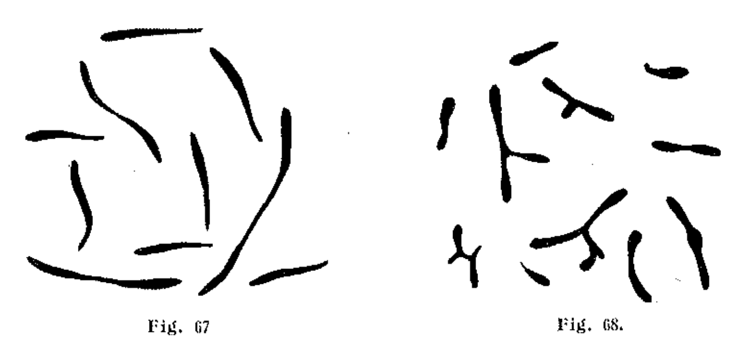


Fig. 67 Fig. 68.

**Fig. 67 et 68. — Formes de croissance de B liparis (culture sur gélose ascite). Formes d'involution du Bacille diphtérique.**

géantes (Fig. 67) renflées en massue à une seule de leurs extrémités ou aux deux à la fois. Ces formes ressemblent assez à certaines formes d'involution du Bacille diphtérique, ainsi qu'on peut s'en rendre compte

par l'examen des figures 67 et 68. La présence d'une ramification médiane n'a pas été observée sur milieux artificiels. Par contre, dans le sang des chenilles de **P. brassicæ** en état d'infection, j'ai pu observer

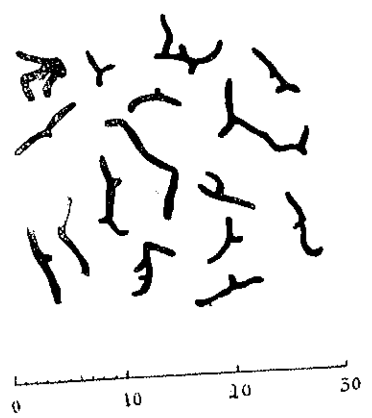



Fig. 69. — Formes de croissance du **B. liparis** dans le sang de chenilles de **P. brassicæ** (étuve 27° — 16 heures après l'inoculation).

quelquefois l'ébauche d'une ramification ou même de ramifications bien développées, non sur Bacilles en massue, mais sur des Bacilles ordinaires plus allongés et sensiblement plus gros que le type normal (Fig. 69).

### 2° Cas du B. melolonthæ liquefaciens γ.

Nous avons vu que dans le sang du Hanneton et des chenilles d'**E. chrysorrhoea,** les Bacilles se présentent sous forme d'éléments coccobacillaires arrondis aux extrémités et que, dans celui des chenilles de **L. dispar,** au moins au début de l'infection, les mêmes éléments différaient sensiblement d'aspect par leurs extrémités accuminées plus ou moins étirées. Quelques heures après l'inoculation (en général vers la huitième ou dixième heure), on observe, dans le sang de ces dernières chenilles, un allongement presque général des Bacilles ; en même temps leur épaisseur s'accroît sensiblement et leurs contours deviennent plus ou moins irréguliers (Fig. 88). A une phase plus avancée de l'infection, on observe qu'un certain nombre de Bacilles présentent un ou même deux renflements médians ou polaires (Fig. 89) dont le diamètre peut atteindre 6 μ. Il semble que ces renflements absorbent toute la



substance microbienne des prolongements bacilliformes : on voit, en effet, que ces prolongements se désorganisent rapidement et qu'ils se détachent bientôt du renflement. A ce stade, les renflements nagent librement dans le sang mais ne sont pas mobiles comme les Bacilles qui leur ont donné naissance ; ils ressemblent à de véritables cellules ; nous verrons même, en étudiant la structure des Bacilles et de leurs formes de croissance, que ces cellules présentent dans leur masse une partie centrale colorable par les colorants nucléaires et qui peut être effectivement prise pour un véritable noyau. Lorsque la chenille inoculée est morte, les formes de croissance disparaissent peu à peu et on n'observe plus, dans les cadavres, que des Coccobacilles semblables à ceux des cultures sur milieu artificiel, c'est-à-dire des Coccobacilles n'ayant même plus la forme caractéristique décrite plus haut.

### 3° Cas du B. lymantricola adiposus.

Nous avons vu que cette espèce avait subi, depuis son isolement, de profondes transformations morphologiques et que les Bacilles étudiés

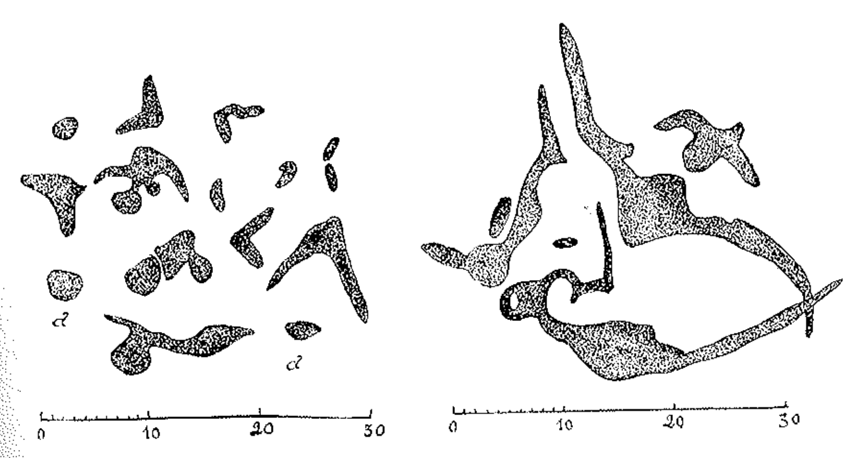



Fig. 71. — Formes de croissance du B **lymantricola adiposus** dans le sang de chenilles de **L. dispar** (en 1918).

Fig. 71 — Formes de croissance du **B. lymantricola adiposus** en voie de développement.

en 1923 différaient très sensiblement de ceux isolés en 1917 ; l'aptitude à donner naissance à des formes de croissance s'est aussi profondément modifiée et ces formes elles-mêmes ont notablement changé d'aspect.

Pendant l'année où le Bacille a été isolé, je n'ai observé que des éléments coccobacillaires typiques dans la cavité générale des chenilles de **L. dispar** infectées avec Bacilles de culture ; quelques éléments cependant avaient tendance à s'allonger et à se renfler dans la partie médiane. L'année suivante, l'aptitude à donner des formes de croissance s'est généralisée et les éléments coccobacillaires de type normal observés dans le sang des chenilles ne représentaient plus qu'une faible propor-

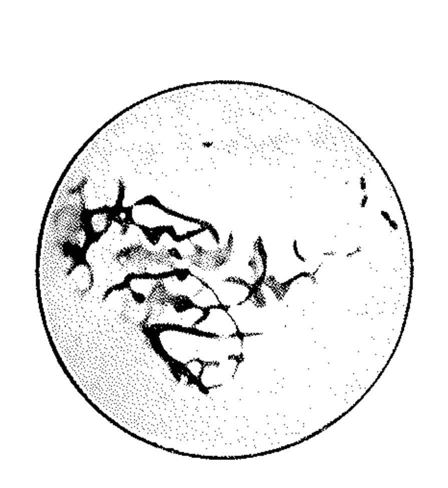




**Fig. 72 et 73. — Bac. lymantricola adiposus.** Formes de croissance observées dans le sang de chenilles de **L. dispar.** En même temps que les formes de croissance, on trouve quelques Coccobacilles normaux.

tion des microbes du sang ainsi qu'on peut s'en rendre compte d'après les figures 70 et 71 et les microphotographies des figures 72 et 73. Les formes de croissance ont pour origine un renflement de la partie moyenne de l'élément bacillaire ; contrairement à ce qu'on observe dans le cas précédent, les prolongements bacilliformes des renflements continuent de se développer et donnent souvent naissance à des renflements et des prolongements secondaires ; l'ensemble constitue une sorte de mycélium (Fig. 72). Dans certains cas, les formes de croissance ont tendance à rester courtes ; quelques-unes même sont arrondies et dépourvues de prolongements bacilliformes. Nous verrons, en étudiant la symbiose chez les Aphides, que des formes identiques se rencontrent



chez certaines espèces hébergeant à la fois des Bactéries symbiotiques et des symbiotes ordinaires.

Nous avons vu que le Bacille était devenu vacuolaire deux ans après son isolement. Les formes de croissance ont subi une transformation parallèle : toutes sont pourvues d'une grosse vacuole centrale, mais alors que les prolongements subsistaient et continuaient même de se développer au cours des deux premières années qui ont suivi l'isolement, elles se résorbent dans les nouvelles formes et les renflements arrondis flottent librement dans le sang. Ils sont dépourvus de mouvement propre, comme d'ailleurs les formes de croissance au début de leur développement. Ils disparaissent petit à petit après la mort de la chenille et les Bacilles tendent à prendre l'aspect qu'ils présentent dans les cultures. Les mêmes formes de croissance qui viennent d'être décrites se développent aussi dans le sang des chenilles d'**Agrotis segetum** (Fig. 92). La proportion de ces formes, dans le sang des chenilles de **Lymantria,** est très inférieure à celle que j'ai observée dans le même milieu en 1918, c'est-à-dire pendant les premiers stades d'évolution du Bacille.

#### 4° Cas du B. pieris liquefaciens $\alpha$.

Jusqu'en 1921, ce Bacille n'a donné, dans le sang des chenilles de **Lymantria dispar,** que des filaments très allongés et plus ou moins tortueux ; en 1919, je constatais cependant que quelques-uns d'entre eux présentaient un bourgeonnement médian, mais le bourgeon ne se développait pas. En 1921, l'aptitude à donner naissance à des formes de croissance s'est rapidement généralisée ; l'origine de ces formes est semblable à celle des espèces qui viennent d'être étudiées (Fig. 91) ; les renflements arrondis sont de toutes dimensions et perdent rapidement leurs prolongements bacilliformes ; ils sont parfois très nombreux dans le sang.

Les trois espèces de Coccobacilles dont nous venons d'étudier les formes de croissance sont toutes trois pathogènes pour les chenilles dans le sang desquelles ces formes prennent naissance. Il existe aussi un certain nombre d'autres Bacilles peu pathogènes pour ces mêmes chenilles, qui donnent également naissance à des masses arrondies plus ou moins volumineuses. Mais ces masses représentent plutôt des formes de dégénérescence des microbes, dégénérescence dont la cause doit être

attribuée à l'action nocive exercée par les liquides organiques (réaction d'immunité humorale). Il est probable d'ailleurs que les formes dites de croissance représentent également un stade de dégénérescence des Bacilles ; l'aptitude de plus en plus grande à donner naissance à ces formes correspondrait à une diminution de la virulence des Bacilles primitifs. Cette hypothèse semble trouver une confirmation dans les phénomènes qui caractérisent la symbiose bactérienne chez les Pucerons.

Sur les milieux de culture, on peut observer des transformations morphologiques qui rappellent beaucoup celles qu'on observe dans les milieux vivants. A ce point de vue, l'étude d'une espèce de Coccobacille isolée en 1922 de larves de **Neurotoma nemoralis,** L., est particulièrement intéressante. En culture sur milieu solide comme dans le sang de divers Insectes, **Bacterium neurotomæ** se présente sous forme d'éléments allongés mais rarement filamenteux. En bouillon ordinaire ou en eau peptonée, les éléments sont plus irréguliers : certains sont cocciformes. Dans les cultures jeunes sur gélose, un certain nombre d'éléments gonflent anormalement et se transforment en masses plus ou moins régulièrement arrondies dont la substance chromatophile se condense généralement dans la partie centrale (Fig. 74) ; les masses prennent alors l'aspect de véritables cellules nucléées ; cependant elles sont dépourvues de vitalité et dégénèrent rapidement ; elles rappellent, par leur forme et leurs propriétés, celles qui ont été décrites précédemment dans le sang des chenilles. La similitude des phénomènes observés sur milieu artificiel et dans l'organisme d'Insectes vivants est frappante. Est-ce à dire que la cause qui détermine la transformation des éléments bactériens en masses de dégénérescence est la même dans les deux cas ? Aucune preuve décisive ne peut être apportée à l'appui de cette thèse.

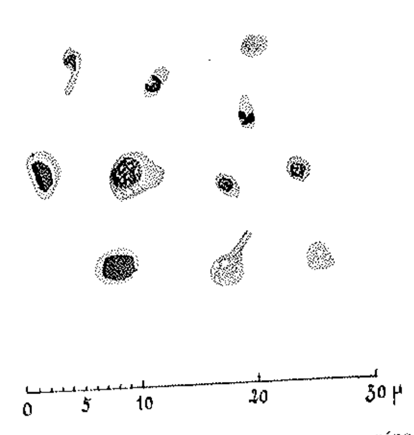


Fig. 74. — **Bact. neurotomae** ; masses géantes en voie de dégénérescence dans une culture jeune sur gélose ordinaire.



Nous verrons, en étudiant le mécanisme des réactions humorales d'immunité que l'hypothèse d'une action purement physico-chimique du plasma sanguin sur les cellules bactériennes peut être soutenue ; les faits observés sur milieu de culture sembleraient fournir des arguments nouveaux en faveur de cette hypothèse.

Les faits très curieux qui viennent d'être exposés ne constituent pas, comme on peut s'en rendre compte, des phénomènes exceptionnels ; il y a donc lieu de s'étonner qu'ils n'aient pas été observés par d'autres biologistes.

Article 3

## STRUCTURE DES BACTERIES

La question de la structure des Bactéries a été le sujet de nombreuses controverses et suscité nombre de travaux importants parmi lesquels ceux de BUTSCHLI, SCHAUDINN, GUILLIERMOND, PENAU, DOBELL sont les plus connus; elle a fait, d'autre part, l'objet d'une thèse soutenue en 1927 par A. PETIT. Je ne ferai pas l'historique complète de cette question, car une telle étude dépasserait le cadre que je me suis fixé ; on trouvera d'ailleurs, dans le travail de PETIT, une très bonne mise au point des diverses opinions émises sur la structure des Bactéries.

Les auteurs les plus anciens considéraient les Bactéries comme des cellules très primitives dépourvues de noyau ; cette opinion a été peu à peu abandonnée et on ne met plus guère en doute aujourd'hui l'existence du noyau dans la cellule bactérienne. Cependant les opinions diffèrent sensiblement lorsqu'il s'agit de préciser la forme et la structure de ce noyau ; les uns admettent que la chromatine est irrégulièrement dispersée dans le cytoplasme ; d'autres, qu'elle est diffuse dans ce dernier ; d'autres enfin, qu'elle est condensée en un organite comparable à celui des cellules mieux évoluées ; certains soutiennent la thèse d'un arrangement déterminé des grains de chromatine dans la cellule et d'autres concilient les opinions contraires en admettant que le noyau évolue et peut passer de la forme condensée à la forme diffuse ou **vice versa.**

MEYER, puis VEJDOWSKY ont soutenu la thèse du noyau typique différencié. Les arguments qu'ils ont fournis à l'appui de cette opinion paraissent irréfutables ; mais rien ne prouve que les espèces géantes étudiées par VEJDOWSKY par exemple, sont de véritables Bactéries. Pour GUILLIERMOND, elles auraient même plus d'affinité pour les Champignons que pour les Bactéries, c'est ce qui expliquerait le caractère hautement différencié de la structure du noyau chez ces microorganismes.

Les travaux de MENCL, de RAYMAN et KRUIS, confirment les résultats des travaux de VEJDOWSKY, mais les arguments de ces auteurs paraissent insuffisants ; d'autre part, d'après GUILLIERMOND, ils auraient commis des erreurs d'interprétation et décrit comme noyau, des cloisons transversales au début de leur formation.

FEINBERG, par coloration de Micrococques et Bacilles avec la solution colorante de Giemsa, a mis en évidence, dans la partie centrale des cellules, un granule ou un filament nettement différencié qui représente le noyau ; ce noyau serait assez polymorphe mais de structure beaucoup plus simple que celle des noyaux décrits par VEJDOWSKY.

WEIGERT, puis BUTSCHLI et SCHAUDINN n'admettent pas l'existence d'un noyau typique à chromatine condensée ; pour ces auteurs, la chromatine est au contraire dispersée sous forme de grains plus ou moins gros dans toute la masse du cytoplasme. Cette même structure a été observée aussi par DANGEARD chez **Chromatium okenii.** Au moment de la sporulation, on observe une sorte de conjugaison puis une condensation de la chromatine.

GUILLIERMOND, à la suite de ses recherches sur la structure de **B. megatherium, B. radicosus, B. mycoides, B. arthrosporus, B. alvei,** admet, comme BUTSCHLI et SCHAUDINN, que les Bactéries renferment de la chromatine plus ou moins mélangée avec le cytoplasme, différenciée quelquefois en petits grains épars au milieu du cytoplasme et condensée au moment de la sporulation, mais il n'accorde pas à ces formations différenciées la signification de noyau.

SWELLENGREBELL admet aussi que les grains de chromatine qui constituent le noyau sont dispersés dans le cytoplasme, mais ces granulations ont une place déterminée dans la cellule ; l'ensemble représente un véritable système chromidial de forme relativement constante que l'on peut considérer comme l'homologue du noyau des cellules plus évoluées. Ainsi dans **B. maximus buccalis,** le système chromidial, ana-



logue au système chromidial d'HERTWIG, se présente sous forme de granulations latérales réunies par des bandes transversales achromatiques

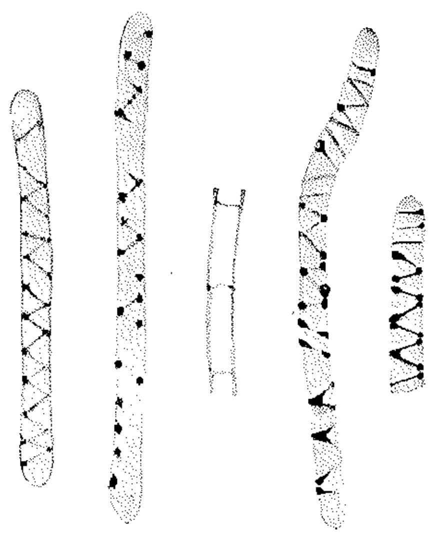


Fig. 75. — Cellules bactériennes de **B. maximus buccalis** (1 3) et de **Spirillum giganteum** (4 5). (D'après Swellengrebell).

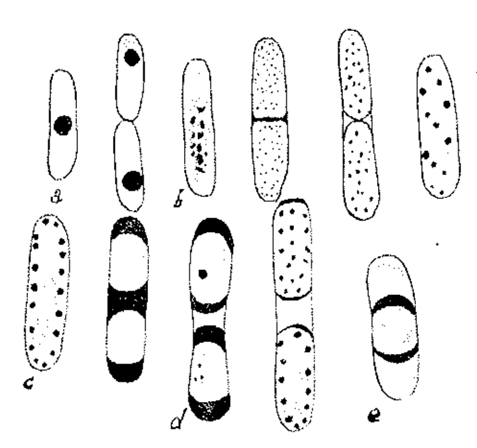



Fig. 76. — Structure de la cellule bactérienne (d'après Amato).

(Fig. 75). SWELLENGREBELL a décrit dans un Spirille (**Sp. giganteum**), un système nucléaire analogue à celui de **B. maximus buccalis** (Fig. 75).

AMBROZ étudiant la structure d'une espèce nouvelle, **Bacterium nitri**, a mis en évidence un filament spirale chromatophile dont la forme et la structure présentent les plus grandes analogies avec celles des Bacilles et Spirilles étudiés par SWELLENGREBELL.

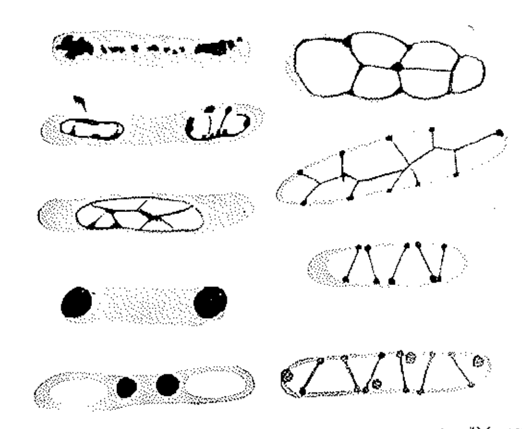


Fig 77. — Structure de B. anthracis (d'après Pénau).

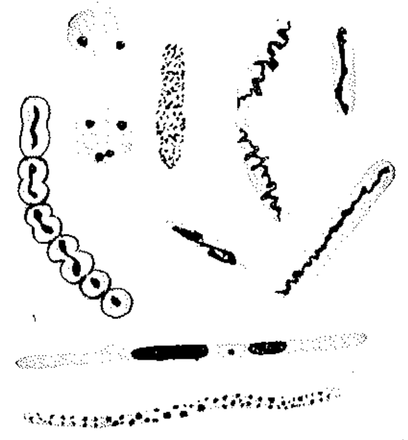


Fig. 78. — Structure de Bacilles et Micrococques divers (d'après Dobell).

D'après les travaux d'AMATO, de PENAU et de DOBELL, la structure du noyau des Bactéries ne serait pas constante pour une même espèce : elle pourrait être à la fois du type diffus et du type condensé.



PETIT a étudié la structure d'un grand nombre de Bactéries ; il conclut de ses recherches à « l'impossibilité de mettre en évidence la présence d'un noyau ». Les corps décrits, considérés par certains auteurs comme des noyaux, n'ont pas les caractères de ces derniers ; dans la plupart des cas, ce sont des formations transitoires qui apparaissent sous forme de corps homogènes n'ayant pas la structure des noyaux ». PETIT considère ces corps comme des corpuscules métachromatiques. D'après lui, le noyau serait diffus. « La chromatine serait disséminée dans le cytoplasme et pourrait, à certains moments, se précipiter sous forme de grains chromatiques qui, en se fusionnant, constituent l'ébauche de la spore ».

Etudiant la structure d'un Bacille isolé du crottin de cheval (**Bacillus mitochondrialis**), ALEXEIEFF met en évidence deux sortes de granules : des corpuscules métachromatiques et des granulations sidérophiles qu'il considère comme des mitochondries ; mais, comme le fait remarquer très justement GUILLIERMOND, les mitochondries ne se conservent pas dans le mélange fixateur de LENHOSSEK, le seul qui ait été employé par ALEXEIFF.

Dans plusieurs notes récentes à l'Académie des sciences, M. et Mme Ch. HOLLANDE ont exposé leur point de vue sur la structure de différentes Bactéries ; d'après ces auteurs, la cellule bactérienne est effectivement pourvue d'un noyau différencié, le nucléosome noyé dans une substance métachromatique, le paranucléosome. Dans une note critique, GUILLIERMOND s'élève contre cette conception et montre que l'interprétation des figures observées par M. et Mme HOLLANDE est inexacte: les paranucléosomes représenteraient les corpuscules lipoïdiques qu'on observe sur le vivant chez différentes espèces de Bactéries, en particulier chez **B. megatherium** et **B. mycoïdes**, espèces étudiées par les deux auteurs. Après coloration post-vitale par le bleu de crésil, on met en évidence, dans les cellules jeunes, un filament axial qui, d'après GUILLIERMOND, correspondrait au « filament chromatique décrit par quelques auteurs dans certaines phases du développement de diverses Bactéries ». Ce même auteur a montré, dans une note récente, que les Bactéries du groupe des Rhodothiobactéries possédaient un véritable noyau analogue au corps central des Cyanophycées. « Ces faits, conclut l'auteur, nous amènent donc à considérer ces Bactéries comme formant un groupe appartenant aux Cyanophycées ».

Ainsi les Bactéries vraies sont considérées généralement comme dépourvues d'un noyau différencié ; la plupart des auteurs avec GUILLIERMOND admettent la théorie du noyau diffus.

Mes recherches propres sur la structure des Bactéries entomophytes ont abouti à des résultats qui ne permettent pas d'adopter sans réserves la théorie du noyau diffus. La simple coloration au Giemsa de frottis de sang d'Insectes en état d'infection met souvent en évidence, dans la cellule bactérienne, des grains et trabécules chromatophiles qui affectent un arrangement déterminé. La différenciation est généralement plus difficile à réussir avec des colorants nucléaires habituels, hématoxyline ferrique ou hémalun par exemple.

### 1° Structure de B. pieris non liquefaciens α.

En colorant à l'hématoxyline ferrique, après fixation au picro-formol alcoolique de DUBOSCQ-BRASIL, un frottis de sang de chenille de **L. dispar** inoculée depuis 6 heures avec Bacilles de culture, j'ai obtenu

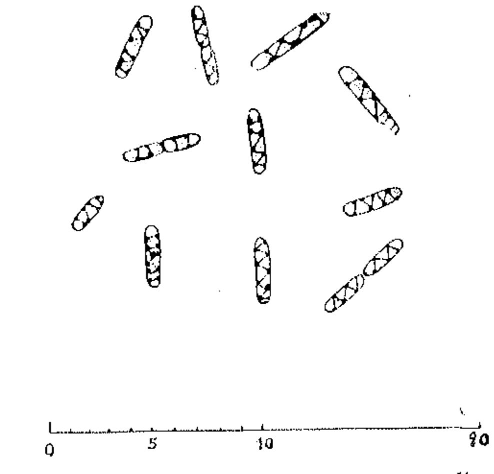



Fig. 79. — Formes normales de début de **B. pieris non liquefaciens** α dans le sang de chenilles de **L. dispar**.

une coloration très nette de la substance chromatophile des cellules bactériennes ; la figure 79 reproduit l'arrangement caractéristique de cette substance dans la masse du Bacille ; cet arrangement présente beaucoup d'analogies avec celui décrit par SWELLENGREBELL dans les cellules de **B. maximus buccalis** ; mais il est visible que les trabécules sidérophiles, dans certains éléments tout au moins, ne font pas partie d'un filament spirale. Les cellules les plus jeunes ne renferment que deux filaments transverses ; chaque filament semble partir d'un point de la membrane cellulaire qui se colore intensément par l'hématoxyline.



Lorsque nous étudierons les transformations du Bacille dans le sang des chenilles en état d'immunité, nous verrons que les double-filaments chromatophiles se retrouvent dans la plupart des Bacilles qui commencent à se développer ; chaque filament occupe une situation polaire dans la cellule. Lorsque celle-ci est en voie de développement, les filaments se divisent ainsi que les grains chromatophiles pariétaux, mais la division n'est pas toujours simultanée ; deux filaments voisins peuvent ainsi rester unis par une de leurs extrémités et la disposition générale qui résulte de cette particularité, multipliée plusieurs fois dans la cellule, rappelle celle d'un filament spirale. Si la cellule s'allonge avant de se diviser elle-même, le nombre des filaments transverses peut dépasser de beaucoup le chiffre normal 2 ; c'est ce qu'on observe dans le cas de **B. pieris non liquefaciens** α. Beaucoup d'autres espèces qui conservent dans le sang l'aspect coccobacillaire ne renferment que deux ou quatre filaments chromatophiles.

### 2° B. melolonthæ liquefaciens γ.

Dans le sang de la plupart des Insectes, cette espèce conserve la forme coccobacillaire normale ; dans celui des chenilles de **L. dispar,** au contraire, elle donne le plus souvent naissance à des formes géantes, d'abord plus ou moins allongées, puis arrondies. L'examen cytologique des formes de début donne des résultats qui confirment ce qui vient d'être dit au sujet de la structure de **B. pieris non liquefaciens** α. Les Bacilles les plus courts renferment deux double-filaments et double-grains chromatophiles pariétaux (Fig. 80) ; les filaments ne sont pas toujours bien visibles. A mesure que les éléments s'allongent, les grains et filaments se divisent et l'ensemble constitue un système chromatophile analogue à celui des Bacilles étudiés par SWELLENGREBELL.

En étudiant la cytologie des formes de croissance, nous verrons que la substance chromatophile de la cellule bactérienne peut être condensée en une masse homogène qui affecte la forme d'un noyau plus ou moins allongé. La présence d'éléments à substance chromatophile con-

densée n'est pas spéciale au **B. melolonthæ liquefaciens** γ ; la plupart des autres Coccobacilles semblent former de tels éléments, ce qui donne

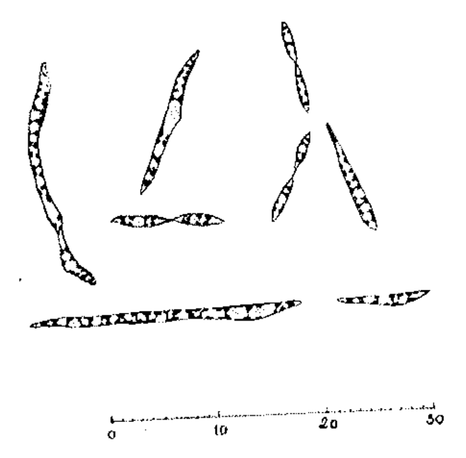



Fig. 80. — Formes de début de **B. melolonthae liquefaciens** γ dans le sang de chenilles de **L. dispar**.

à penser qu'ils représentent effectivement un stade particulier de l'évolution des Bacilles ; mais nous ne savons rien de leur signification morphologique.

### 3° Bacillus hoplosternus.

Il est assez difficile d'obtenir une bonne différenciation de la substance chromatophile par le mélange de Giemsa, en raison de l'intensité avec laquelle le microbe fixe la matière colorante. Lorsque la différenciation se produit dans de bonnes conditions, la substance chromatophile apparaît colorée en pourpre au milieu du cytoplasme teinté en bleu pâle. La figure 81 représente divers aspects de cellules ainsi colorées ; ces cellules proviennent d'une culture sur gélose ensemencée avec vieilles spores et gardée sept heures à l'étuve à 37°. L'arrangement de la substance chromatophile dans la cellule diffère notablement de celui qui caractérise les cellules bactériennes précédemment étudiées ; ainsi la disposition en filaments transversaux est relativement peu fréquente ; le plus souvent la substance chromatophile forme dans la partie centrale de la cellule de petites masses bien colorées, quelquefois simples (Fig.



81, **a**), le plus souvent doubles (**b**) ou étirées en haltères (**c**). Quelquefois aussi, la substance chromatophile se présente sous forme de petits

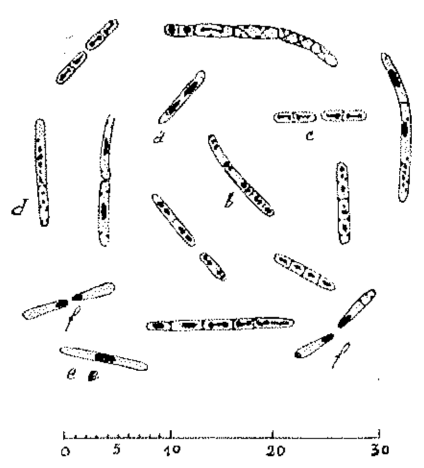



Fig. 81. — Structure de **Bacil hoplosternus**. Culture de 7 heures sur gélose ordinaire. Coloration au Giemsa.

grains qui paraissent dispersés sans ordre dans la masse cytoplasmique (**d**). Enfin on observe, comme dans le cas du **B. melolonthæ liquefaciens** γ, la présence d'éléments plus allongés que les Bacilles normaux dans lesquels la substance chromatophile est condensée en une sorte de noyau allongé dans le sens de la longueur (**e**). Peut-être ces formes représentent-elles des stades de repos de la cellule bactérienne, cependant elles peuvent se diviser; la figure 81 représente deux de ces cellules en voie de multiplication (**f**) ; on voit que la division s'est effectuée par la partie médiane de la masse chromatophile ; les deux masses qui résultent de la division de la masse primitive occupent les deux extrémités amincies des cellules-filles qui se font face.

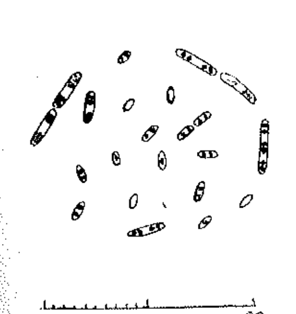



Fig. 82. — Spores de **B. hoplosternus** en voie de germination ; culture de 4 heures sur gélose; coloration au Giemsa.

Il est possible que les aspects si variés présentés par les cellules de **B. hoplosternus** ne représentent en réalité que des stades plus ou moins évolués de ces Bacilles. Si l'on examine par exemple des Bacilles

résultant directement de la germination des spores, la structure de la cellule apparaît beaucoup plus homogène. La figure 82 représente les éléments d'une culture de quatre heures obtenue à partir de spores de deux ans ; la différenciation est obtenue par coloration au Giemsa et régression dans l'alcool absolu ; on distingue, dans les spores en germination, une masse centrale chromatophile qui se divise ensuite avant l'apparition de la cloison cellulaire ; les éléments simples issus directement de la spore sont ainsi munis de deux masses chromatophiles plus ou moins aplaties transversalement ; les double-masses se divisent ensuite, puis la division cellulaire suit peu après.

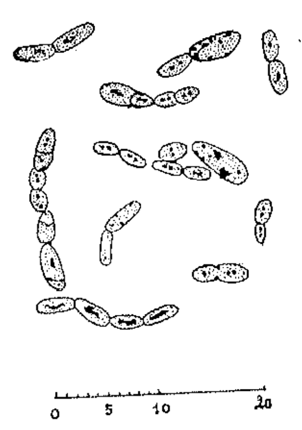



Fig. 83. — **B. hoplosternus.** Bacilles asporogènes. Coloration vitale au bleu de méthylène.

Il existe une race asporogène du **Bacillus hoplosternus** ; la structure des éléments cellulaires présente des particularités que l'on met facilement en évidence par coloration vitale au bleu de méthylène (Fig. 83). On distingue dans la partie médiane des granules réfringents qu'on observe dans les Bacilles avant la sporulation ; ils rappellent par contre ceux que l'on met en évidence dans les Bacilles jeunes après coloration au Giemsa. Ils sont souvent disposés par deux dans les articles ; on peut remarquer aussi les deux points latéraux opposés, fortement colorables, qui sont le premier indice du cloisonnement du Bacille.

### 4° B. neurotomæ.

La coloration de frottis de Bacilles de culture par le Giemsa permet de mettre en évidence un système chromatophile bien différencié dont la disposition dans la cellule bactérienne varie suivant l'âge de la cellule. Dans les cellules jeunes, la structure des éléments est celle représentée dans la figure 84 ; la substance chromatophile est disposée généralement sous forme de double-bandes transversales ; les éléments les plus courts, c'est-à-dire les plus jeunes, ne présentent que deux double-bandes lorsque l'élément s'allonge ; les bandes chromatophiles se multiplient et on peut observer trois, quatre, n double-bandes. On observe, dans un certain nombre d'éléments, que la substance chromatophile est



condensée sous forme d'une masse plus ou moins allongée qui ressemble à un noyau.

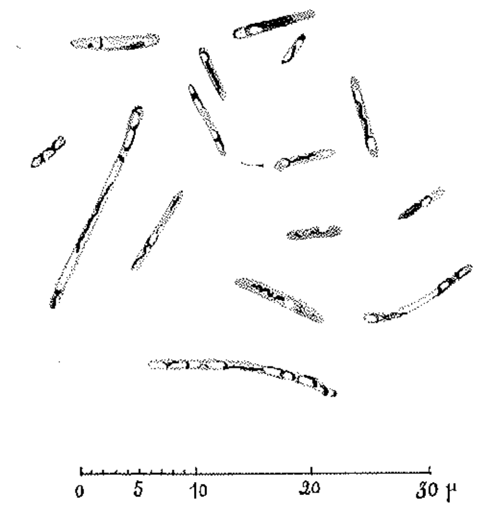



Fig. 84. — **B. neurotomae.** Frottis de culture sur gélose de 3 jours; coloration au Giemsa.

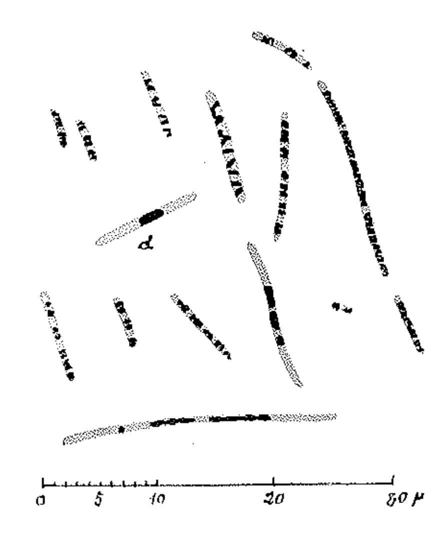



Fig. 85. — **B. neurotomae.** Frottis de culture de 30 jours; coloration au Giemsa.

Dans les vieilles cultures de **B. neurotomae,** l'arrangement de la substance chromatophile change ; cette substance se condense généralement

sous forme de filaments médians continus ou fragmentés qui peuvent épouser sur une partie de leur longueur, la forme des vacuoles cytoplasmiques (Fig. 85). La substance chromatophile représente, semble-t-il, la partie de la cellule bactérienne qui conserve le plus longtemps sa vitalité.

### 5° Diplococcus bombycis.

J'ai pu obtenir une bonne différenciation de la substance chromatophile en colorant au Giemsa un frottis de sang d'**E. chrysorrhœa** infectée

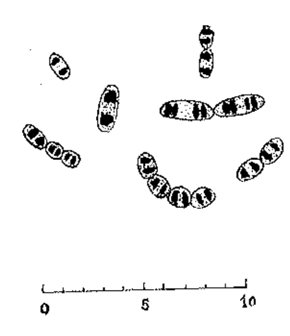



Fig. 86. — **Diplococcus bombycis** dans le sang de chenilles d'E. chrysorrhœa. Coloration au Giemsa.

depuis peu avec microbes de culture. Comme dans les Coccobacilles, on constate la présence de double-bandes transversales chromatophiles.

### 6° B. lymantricola adiposus.

Nous avons vu, en étudiant les caractères morphologiques, que ce Bacille était caractérisé, après plusieurs années de culture, par l'aspect fortement vacuolaire du cytoplasme. En colorant au Giemsa un frottis de sang de chenille d'**Agrotis segetum** infectée, on met en évidence, dans la plupart des cellules bactériennes, une sorte de noyau plus ou moins allongé (Fig. 87, **a**) ; dans certains éléments, la substance chromatophile est moins condensée (**b**) ; mais la condensation est ici la règle alors que chez les espèces étudiées précédemment, c'était l'exception.

L'étude cytologique des autres espèces de Coccobacilles entomophytes que j'ai isolées jusqu'ici donnerait des résultats analogues à ceux qui



viennent d'être exposés. La constance de l'arrangement des bandes chromatophiles transversales dans les éléments en voie de multiplication nous autorise à les considérer, sinon comme des noyaux véritables, tout au




Fig. 87. — **B. lymantricola adiposus** dans le sang de chenille d'A segetum 13 heures après l'inoculation Coloration au Giemsa.

moins comme des éléments bien différenciés du cytoplasme. La cellule bactérienne simple serait constituée par un élément à une seule double-bande ; les éléments à **n** double-bandes (**n** étant supérieur à deux) représentent l'équivalent des syncitia.

## STRUCTURE DES BACILLES ANORMAUX. FORMES DE CROISSANCE ET D'INVOLUTION

### 1° B. melolonthæ liquefaciens $\gamma$.

Jusqu'en 1921, le Bacille s'est montré relativement peu polymorphe, mais à partir de ce moment, il a changé de caractère et a donné naissance à des formes de croissance qui peuvent être observées en assez grand nombre dans le sang des chenilles de **L. dispar.** Dans les formes bacillaires très allongées, on constate, après coloration au Giemsa, l'existence de filaments ou bandes transversales disposées, semble-t-il, sans

ordre défini : j'ai expliqué plus haut l'origine de cette disposition. Les masses arrondies issues des éléments bacilliformes se présentent, après coloration, comme de véritables cellules nucléées : on distingue en effet dans la partie centrale une masse de grosseur et de texture variables fortement colorée en pourpre ; au lieu d'une masse centrale, on peut observer des grains chromatophiles en nombre variable (Fig. 88). Les mêmes

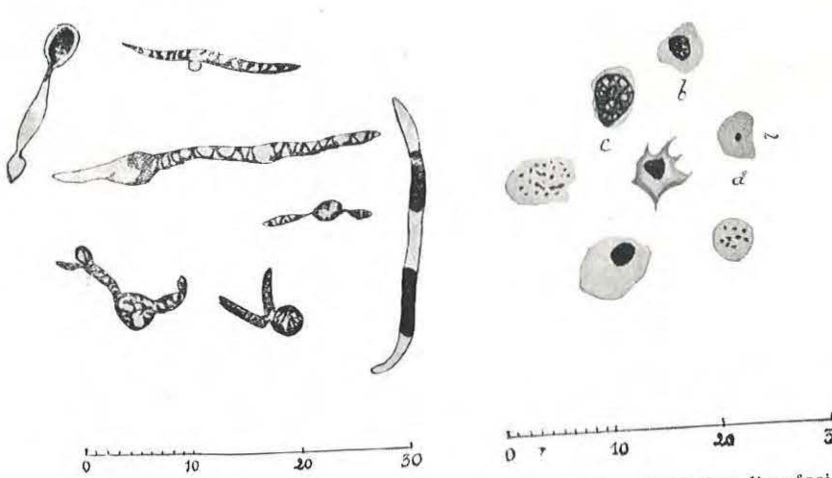



Fig. 88. — **B. melolonthae liquefaciens** γ. Formes de croissance dans le sang de **L. dispar** 10 heures après l'inoculation. Giemsa.

Fig. 89. — **B. melolonthae liquefaciens** γ. Masses géantes dans le sang de **L. dispar** 15 heures après l'inoculation. Giemsa.

masses ou grains chromatophiles apparaissent très nettement après coloration à l'hémalun ou à l'hématoxyline ferrique. S'agit-il d'un noyau véritable ? Il n'est guère possible de répondre affirmativement si on donne au mot noyau la signification précise que lui donnent les cytologistes : en effet, sa forme est des plus variables et le rapport entre la masse de la substance chromatophile et celle de la substance cytoplasmique varie d'un élément à un autre. Cependant, à s'en tenir aux réactions colorantes, il semble bien que les masses et les grains différenciés soient constitués en grande partie par de la chromatine.

### 2° B. pieris liquefaciens α.

Nous avons vu que ce Bacille se transformait généralement en longs filaments dans la cavité générale des chenilles de **L. dispar**. Dans



certains cas, ces filaments peuvent se résorber complètement pour donner naissance à des masses arrondies de grosseur variable (Fig. 90). En général, le nombre des masses géantes qui se forment au cours d'une infection est relativement peu élevé ; dans un cas cependant, la plus grande partie des filaments en suspension dans le sang d'une chenille infectée sont disparus après avoir donné naissance à un nombre considérable de masses de toutes grosseurs et de forme et de structure très

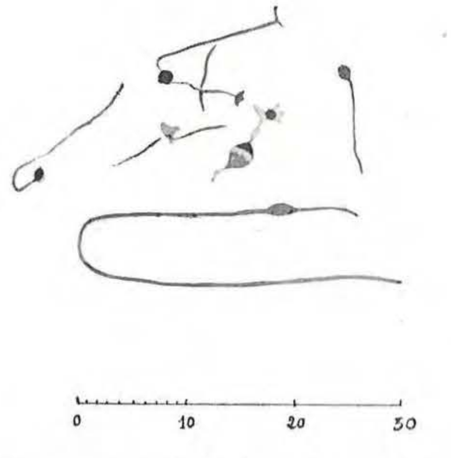



Fig. 90. — **B pieris liquefaciens** α. Formes de croissance dans le sang de **L. dispar** 17 heures après l'inoculation. Giemsa.

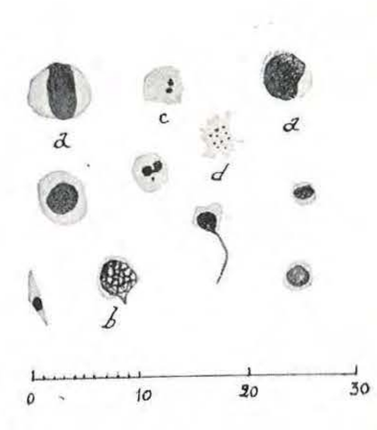



Fig. 91 — **B. pieris liquefaciens** α. Masses géantes dans le sang de **L. dispar** 17 heures après l'inoculation. Giemsa.

variables. J'ai représenté, dans la figure 91, les principaux types rencontrés sur un frottis de sang coloré au Giemsa. La substance chromatophile de ces masses se présente sous la forme condensée (**a**) ou diffuse (**c** et **d**) ou même fibrillaire (**b**) ; on peut remarquer la grande disproportion qui existe, dans certaines masses, entre la substance chromatophile et la susbtance cytoplasmique ; si l'on admet que la proportion entre ces deux substances est relativement constante dans les éléments bacilliformes, la disproportionnalité constatée dans certaines masses doit vraisemblablement résulter du fait que la substance chromatophile des éléments ne passe qu'en partie dans ces masses ; ce peut être aussi la conséquence d'une altération cellulaire résultant de l'action sanguine (réaction humorale d'immunité).

**3° B. lymantricola adiposus.**

Dans la cavité générale des chenilles d'**A. segetum**, ces Bacilles donnent souvent naissance à des masses arrondies dont la structure, comme celle des éléments bacilliformes, est fortement vacuolaire. La substance chromatophile, très nettement différenciée après coloration au

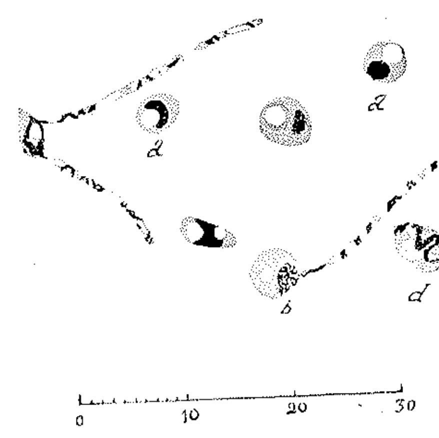



**Fig. 92. — B lymantricola adiposus.** Formes géantes dans le sang d'A. segetum 23 heures après l'inoculation. Giemsa.

Giemsa, à l'hémalun ou à l'hématoxyline ferrique, se présente sous forme de masse homogène (Fig. 92, **a**) ou fibrillaire (**b**). Elle a pour origine la substance chromatophile de l'élément bacilliforme qui donne naissance, à la masse géante; cette substance, ainsi qu'on peut le voir dans la figure, paraît émigrer simplement dans l'intérieur de la masse. On peut constater que la structure des longs filaments représentés dans la figure est différente de celle que j'ai décrite précédemment (Fig. 87) : au lieu d'être condensée, la substance chromatophile est répartie suivant des bandes transversales simples ou doubles ; l'arrangement est donc le même que chez **B. melolonthæ liquefaciens** $\gamma$ (formes normales).

Les éléments bacilliformes et les masses géantes issues de ces éléments ne renferment pas seulement de la substance chromatophile, mais aussi des grains métachromatiques que l'on met facilement en évidence par coloration au bleu polychrome. Le nombre de ces grains et leur disposition dans la cellule varient d'un élément à l'autre (Fig. 93 et 94).



Les conclusions que l'on peut tirer de cette étude de la structure des Bacilles entomophytes sont en faveur du polymorphisme architectural de la cellule bactérienne : on peut admettre que cette cellule est pourvue d'un système nucléaire différencié caractérisé, comme le noyau

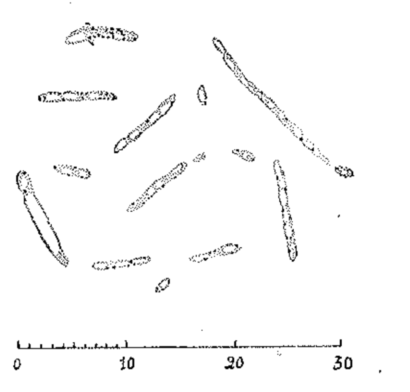



**Fig. 93. — B lymantricola adiposus.** Éléments bacilliformes avec grains métachromatiques. Bleu polychrome.

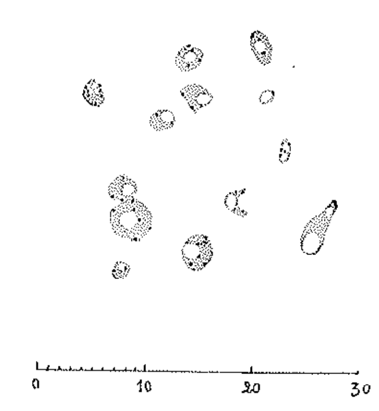



**Fig. 94 — B. lymantricola adiposus.** Masses géantes avec grains métachromatiques. Bleu polychrome.

des cellules plus évoluées, par la présence de chromatine ; morphologiquement, il n'existe aucun rapport entre les deux sortes de noyaux ; celui de la cellule bactérienne est caractérisé avant tout par sa très grande plasticité. Parmi toutes les formes d'arrangement de la chromatine, il en est une qui paraît se reproduire plus fréquemment que toute autre : c'est la disposition en bandes transversales groupées généralement par paires.

CHAPITRE XII

# Pathogénie des infections bactériennes.

Article 1.

## CONSIDERATIONS GÉNÉRALES SUR LES PROCESSUS INFECTIEUX CHEZ LES MAMMIFÈRES

D'une manière générale, on admet que les désordres organiques qui se produisent chez les Mammifères à la suite de la pénétration des Bactéries dans l'organisme et de leur multiplication dans les tissus, sont causés par les poisons ou toxines élaborés par ces microbes. L'action toxique exercée par les poisons bactériens varie suivant les espèces microbiennes qui les produisent ; elle varie aussi, pour une même espèce, suivant le milieu dans lequel la Bactérie s'est multipliée. On a pu mettre en évidence l'existence de plusieurs toxines microbiennes et étudier leurs propriétés ainsi que leur action sur les cellules de l'organisme, mais on n'a pu les isoler à l'état pur de sorte qu'on ignore encore leur véritable nature. Parmi les plus connues, on peut citer la toxine diphtérique, la toxine tétanique et la toxine botulinique. La toxine tétanique est élaborée par le Bacille du tétanos et agit à doses très faibles sur la plupart des espèces animales. Le filtrat de culture détermine par exemple des accidents mortels chez les Souris à la dose extrêmement faible de 1/100.000° de centimètre cube. Les Vertébrés à sang froid opposent une résistance considérable à l'action de la toxine, mais J. COURMONT et

Doyon ont montré que cette résistance cédait à l'accroissement de température du corps ; c'est ainsi que des Grenouilles tétanisées meurent si on les place à l'étuve. La toxine diphtérique élaborée par le Bacille de Krebs-Loeffler a été découverte par Roux et Yersin; c'est un redoutable poison pour beaucoup de Vertébrés ; cependant le Rat résiste à des doses relativement élevées de toxine ; le Chien est également assez résistant ainsi que le Lapin. La toxine botulinique est engendrée par le **Bacillus botulinis** qui se rencontre habituellement dans les viandes et les conserves avariées. Elle détermine des accidents redoutables lorsqu'elle est ingérée par l'Homme.

Les toxines tétanique et diphtérique ont une affinité particulière pour les cellules nerveuses, mais elles ne semblent pas déterminer de lésions cellulaires caractéristiques ; elles ne provoquent d'accidents graves que si elles sont inoculées sous la peau ou dans le sang tandis que la toxine botulinique peut agir en outre par la voie intestinale. Par leurs propriétés, les toxines se rapprochent des diastases, mais elles sont cependant de nature différente. D'après J. Courmont et Doyon, leur toxicité résulterait de la formation d'une substance nouvelle qui jouerait en définitive le rôle de poison pour l'organisme.

Les Invertébrés sont en général réfractaires aux toxines microbiennes. Cependant Chorine, étudiant l'action toxique des toxines diphtérique et tétanique sur les chenilles de **Galleria mellonella** a montré que la première était dangereuse pour celles-ci ; fraîchement préparée et inoculée dans la cavité générale des chenilles à la dose de 1/2.000$^{e}$ de cent. cube, elle détermine leur mort en 25 à 30 jours ; dès le cinquième ou sixième jour, des taches noires apparaissent sur la peau et deviennent de plus en plus nombreuses. L'action toxique n'est pas comparable toutefois à celle qu'on observe chez les Vertébrés à température constante.

On ne connaît pas de Bactérie entomophyte dont les filtrats de culture agissent sur les Insectes comme les toxines mentionnées plus haut agissent sur les Vertébrés. On ne peut en déduire cependant que ces Bactéries sont atoxigènes car l'existence des toxines ne peut être révélée que par la réceptivité de certaines cellules de l'organisme et les accidents qui résultent des modifications apportées dans la fonction normale de ces cellules après fixation de la toxine. Tout au plus peut-on affirmer que les substances diverses élaborées par les Bactéries entomophytes ne présentent généralement aucune affinité particulière pour les cellules vivantes des Insectes.



Cependant K. Aoki et Y. Chigasaki, en étudiant une dysenterie microbienne du Ver à soie causée par le **Bacillus** « Sotto » isolé en 1902 par Ishiwata, ont montré que l'action pathogène de ce Bacille s'exerçait par l'intermédiaire d'une toxine non mise en liberté dans les milieux de culture, mais qui peut être libérée partiellement par macération de microbes de culture dans une solution de chlorure de sodium. Elle est détruite par la chaleur et par les désinfectants ordinaires. L'action toxique du Bacille Sotto est assez élevée : des Vers à soie inoculés avec une émulsion de Bacilles de culture de 5 à 10 jours, meurent en trois heures, par conséquent, avant que les Bacilles ne se soient activement multipliés dans le sang. J'ai fait moi-même des constatations analogues avec un Bacille sporulé isolé du contenu intestinal de Vers à soie atteints de flacherie vraie : les vers inoculés avec une gouttelette de culture en bouillon meurent en quelques heures et noircissent très rapidement ; au moment de la mort, le sang ne renferme qu'une proportion très faible de Bacilles. L'ingestion de culture riche en Bacilles ne détermine aucun accident pathologique.

Les infections tétanique et diphtérique sont caractérisées par leur localisation dans l'organisme : les Bacilles diphtériques, par exemple, se multiplient seulement dans la gorge, le larynx et les fosses nasales ; ils déterminent la formation de pseudo-membranes qui s'étendent parfois jusqu'aux bronches ; mais on ne rencontre pas le microbe dans le sang. Le Bacille tétanique est étroitement localisé dans la plaie profonde à la faveur de laquelle il a pénétré dans les couches profondes de la paroi du corps ou dans les muscles ; il se développe relativement peu mais fabrique de la toxine qui agit à doses infinitésimales entraînant le plus souvent la mort. Certaines espèces pathogènes peuvent se développer dans le sang et infecter les différents tissus ; on dit alors que l'infection est généralisée ; elle prend le nom de bactériémie ou de septicémie. Le Coccobacille du choléra des poules, le Bacille du charbon rentrent dans cette catégorie. Le Streptocoque, le Bacille typhique, le Colibacille peuvent se localiser dans l'organisme ou se multiplier dans le sang ; suivant le mode de développement, les accidents qu'ils provoquent sont de nature essentiellement différente. Ainsi le Streptocoque en se développant localement détermine la formation d'œdèmes inflammatoires ou érysipèles qui n'ont rien de commun avec l'infection générale résultant de la multiplication du Streptocoque dans le sang.

LE BOURDELLES et SÉDALLIAN opposent aux maladies toxiques comme celles engendrées par les Bacilles tétanique et diphtérique, les maladies virulentes. « La virulence microbienne, disent ces auteurs, se traduit par l'envahissement de l'organisme par le microbe qui se développe **in vivo** et diffuse dans les tissus ».

La notion de virulence est d'une importance primordiale en pathologie infectieuse. Elle est définie par ARTHUS : « la capacité offensive d'un microbe ». Un microbe est virulent pour une espèce donnée quand, introduit dans l'organisme d'un individu de cette espèce, il peut s'y multiplier et provoquer des désordres anatomiques et fonctionnels caractéristiques. Des microbes non virulents pour un animal peuvent le devenir si on les habitue progressivement à l'organisme réfractaire ou si on modifie ses conditions biologiques normales. Ainsi on a pu rendre virulents pour des animaux, des microbes saprophytes banaux en les enfermant dans des sacs de collodion hermétiquement clos et introduisant ces derniers sous le péritoine ; on a pu également rendre la Bactérie du charbon virulente pour la Poule en refroidissant celle-ci par immersion prolongée dans l'eau froide.

L'association avec d'autres espèces microbiennes détermine d'importantes variations de la virulence. Le Bacille du charbon, non pathogène pour le Lapin, devient virulent pour cet animal quand il est associé avec le **Bacillus prodigiosus**, espèce saprophyte très commune dans les eaux. La virulence dépend du nombre des Bactéries injectées, du lieu d'inoculation, de l'état physiologique de l'animal soumis à l'infection.

La virulence est en général très variable ; elle peut être exaltée ou diminuée. L'exaltation est obtenue par passages successifs à travers l'organisme vivant : on injecte à un animal donné une quantité de microbes de culture suffisante pour le tuer ; on ensemence des tubes de culture avec les microbes prélevés dans le sang ou les tissus un peu avant la mort de l'animal, puis on injecte un nouvel animal avec les microbes de culture du premier passage. On répète les mêmes opérations jusqu'à ce que la virulence n'augmente plus. A ce moment, il suffit d'une très faible quantité de microbes pour tuer l'animal pour lequel a été exaltée la virulence. Ainsi le Streptocoque de culture, peu pathogène pour le Lapin, devient tellement virulent pour celui-ci à la suite de passages successifs par cet animal, qu'il suffit d'une dose de 1/100.000e de cent. cub. de culture en bouillon pour le tuer. On ne peut



augmenter indéfiniment la virulence ; lorsqu'elle atteint un certain niveau, elle ne peut plus être modifiée : on dit alors qu'elle est fixe.

L'exaltation de la virulence pour une espèce donnée peut être obtenue plus rapidement par passage à travers un organisme appartenant à une espèce différente. Ainsi la virulence du Bacille du rouget du Porc est considérablement renforcée pour cette espèce à la suite de quelques passages par Pigeon.

On diminue la virulence des microbes pathogènes en les cultivant sur milieux artificiels ou en faisant agir sur eux des antiseptiques divers. Le vaccin antituberculeux de CALMETTE (B. C. G.) n'est pas autre chose qu'une culture très atténuée du Bacille tuberculeux humain. Cette virulence atténuée et fixée a été obtenue à la suite de 1.300 passages sur milieu bilié.

Article 2

## CARACTÈRES DE L'INFECTION BACTÉRIENNE CHEZ LES INSECTES

Le type normal de l'infection bactérienne chez les Insectes est la septicémie ; il existe cependant des cas où les agents parasitaires sont localisés dans certaines parties du corps, mais il ne s'agit pas là de maladie au sens pathologique du mot, les Insectes en état d'infection ne souffrant pas de la présence des parasites. Toutes les infections bactériennes normales des Pucerons, qui sont considérées comme des phénomènes de symbiose, rentrent dans cette catégorie.

### ÉTUDE DE LA VIRULENCE

Deux facteurs d'égale importance sont à considérer dans l'étude de la virulence : le facteur microbe et le facteur hôte. La virulence d'un microbe pour un Insecte donné pourrait être exprimée par un rapport simple **p/h**, **p** représentant la puissance de multiplication du parasite, **h**, la résistance de l'hôte à l'infection, si ces deux valeurs étaient constantes. En réalité, **p** et **h** varient dans de grandes limites et, de plus, les variations de l'une entraînent nécessairement des modifications plus

ou moins étendues de l'autre valeur sans que, néanmoins, le sens et l'étendue de ces dernières correspondent à ceux des variations de la première valeur. Le rapport **p/h** est donc loin de représenter une valeur fixe, même lorsqu'il s'agit d'un parasite donné vivant dans un hôte donné ; en fait, sa valeur change à chaque instant parce que les conditions de la vie du microbe et de son hôte varient constamment. Comme il est impossible, avec les moyens d'investigation dont on dispose, de mesurer ces variations, on comprend que la détermination du rapport **p/h** à un moment donné soit aussi impossible. En pratique, on mesure la virulence par le temps qui s'écoule entre le moment de l'inoculation et la mort de l'hôte, mais il est bien évident que les valeurs ainsi obtenues ne donnent qu'une idée très imparfaite de la virulence telle que nous l'avons définie.

La puissance de multiplication du microbe représentée par **h** dans le rapport qui exprime la virulence est soumise à l'influence de facteurs dont la plupart sont inconnus ; l'expérimentateur ne peut donc agir sur eux, de même qu'il ne peut en prévoir les effets. D'un autre côté, la force de résistance de l'hôte varie suivant des causes mal déterminées. L'étude de la virulence ne peut donc donner de résultats complets dans l'état actuel de nos connaissances ; seule la détermination des causes encore mystérieuses qui influent sur la vitalité des microbes et de leurs hôtes permettra d'obtenir une précision suffisante.

### Le facteur microbe.

Nous avons vu que chez l'Homme, le microbe agit principalement par les toxines qu'il sécrète ; chez les Insectes au contraire, le rôle des toxines est beaucoup moins important ; la mort survient en général à la suite de la pullulation excessive des microbes dans le sang et les autres tissus. Cette mort apparaît bien plus comme le résultat d'une suppression générale des fonctions vitales de l'hôte à la suite de la multiplication exagérée du parasite dans le milieu où se font les échanges que comme un empoisonnement véritable et une destruction des cellules indispensables à la vie, par les toxines.

On connait très mal encore les facteurs qui règlent les aptitudes parasitaires des Bactéries et qui influent sur sa multiplication dans l'organisme vivant. CHORINE, en 1928, a montré que la concentration en ions H du milieu de culture influait sur la virulence des microbes. Les expériences faites par cet auteur sur les chenilles de **Pyrausta nubilalis** avec un petit Coccobacille isolé de chenilles malades, ont montré que la virulence est maximum pour un pH voisin de 7,2. Alors que la mortalité après infection **per os** est de 90 % lorsqu'on emploie des microbes cultivés sur bouillon dont le pH est de 7,2, elle est seulement de 65 % lorsque le pH est de 6,5 et de 57,5 % pour un pH de 7,7.



On connaît déjà l'influence de la concentration ionique du milieu de culture sur la production de toxine par le Bacille diphtérique (travaux de GROER, d'ABT) ; mais le cas étudié par CHORINE est différent puisque le Coccobacille expérimenté ne sécrète pas de toxine.

### Influence de la température.

Chez les Vertébrés à température constante, le facteur température ne joue qu'un rôle très secondaire dans les variations de vitalité des microbes d'infection. Chez les Invertébrés au contraire, il est à prévoir que le rôle de la température est des plus importants en raison des variations considérables de ce facteur pendant le cours de l'infection. Ces variations ont une influence directe sur la vitalité du microbe, mais elles ont aussi une répercussion sur la résistance de l'hôte : la résultante de toutes ces actions se manifeste par un accroissement ou une diminution du rapport **p/h**.

Dans leur compte-rendu d'essai de destruction du **Schistocerca peregrina** au Maroc par le **Coccobacillus acridiorum**, VELU et BOUIN ont bien mis en évidence l'influence de la température sur les variations de la virulence du Coccobacille pour cet Insecte. Ces variations, qui étaient considérables d'une série de Criquets inoculés (en vue des passages) aux suivantes, étaient dues, sans aucun doute, aux changements diurnes de la température extérieure ; « pendant les nuits froides de mai, la mort des Criquets inoculés ne survenait qu'au bout de 8, 9 et quelquefois même, 10 heures ; alors que pendant les heures très chaudes de la journée, les malades succombaient en 3 ou 4 heures ».

Cette influence de la température doit être considérée comme très importante dans la conduite des expériences de contamination artificielle. Dans les pays continentaux où les variations diurnes et nocturnes de la température sont le plus souvent très brusques et considérables, la propagation des épidémies artificiellement créées peut être entravée à la suite d'un refroidissement prolongé. Même dans les pays chauds et principalement dans les régions montagneuses, les variations de température peuvent être assez grandes pour modifier dans de gran-

des proportions le taux de mortalité des Insectes artificiellement contaminés. Il n'est pas impossible que l'influence de ce facteur naturel soit une des raisons qui expliquent la divergence des résultats obtenus par les principaux expérimentateurs de la méthode préconisée par d'HERELLE comme moyen de lutte contre les Criquets

G. WHITE étudiant une septicémie naturelle des chenilles de Sphingides (« Hornworms ») parasites du Tabac et de la Tomate, septicémie causée par un Coccobacille (**Bac. sphingidis**) a montré que l'élévation de la température ambiante prédispose la chenille à l'infection.

### Influence de l'âge de l'Insecte.

Cette influence, étudiée par VELU et BOUIN sur les Criquets, serait loin d'être négligeable et il y aurait lieu d'en tenir compte dans la conduite des expériences de contamination artificielle. D'après ces auteurs « un Bacille très virulent pour un stade donné, l'est beaucoup moins pour un stade plus élevé ». D'où la conclusion suivante : « Il est indispensable, pour la préparation des bouillons, de se servir d'un virus obtenu à partir de Criquets du même stade ou d'un stade plus élevé que ceux que l'on veut contaminer ».

N'ayant jamais pu confirmer dans mes expériences les conclusions de VELU et BOUIN, je les considère comme s'appliquant spécialement à la virulence du **C. acridiorum** pour les Criquets.

D'après WHITE, l'infection des chenilles de Sphingides par **B. sphingidis** réussit mieux avec les chenilles du cinquième âge qu'avec des chenilles plus jeunes, ce qui est contraire aux conclusions des auteurs précédents. La même constatation a été faite sur les chenilles d'**Agrotis aquilina** parasitées naturellement par un autre Coccobacille, le **B. nocturum.** De même GLASER, étudiant une maladie bactérienne du Ver à soie causée par un Bacille mobile non colorable par la méthode de Gram, a constaté que les vers étaient surtout sensibles à l'infection à la fin de leur vie larvaire.

### Influence des autres facteurs.

Ces autres facteurs constituent les causes encore inconnues qui modifient, dans un sens ou dans un autre, la virulence d'une Bactérie à la suite de passages répétés dans l'organisme d'individus appartenant à une même espèce. Le plus souvent, le sens de la modification est posi-



tif, mais il peut arriver aussi qu'il devienne brusquement négatif sans qu'il soit possible de déterminer la cause d'un tel changement. En général, comme nous l'avons dit précédemment, la virulence croît à chaque passage jusqu'à un maximum qui ne peut être dépassé. Cette notion est étendue généralement aux Invertébrés, mais on manque de faits pour l'appuyer. C'est pour combler cette lacune que j'ai fait des expériences avec un certain nombre de Bactéries entomophytes choisies parmi les plus pathogènes pour la plupart des Insectes.

#### 1° Variations de la virulence de B. melolonthæ liquefaciens α pour les chenilles d'E. chrysorrhœa.

Quinze passages successifs ont été effectués à travers ces chenilles ; les résultats sont consignés dans le tableau ci-après et dans le graphique de la figure 95.

Toutes les chenilles inoculées au cours de ces différents passages ont reçu sensiblement la même quantité d'émulsion microbienne. Les variations constatées dans la durée de la maladie pour chacune d'elles dépendent, en premier lieu, de la quantité de Bacilles introduits dans la cavité générale (comparer les nombres des colonnes 8 et 9) ; en second lieu, des changements dans le degré de la virulence des microbes injectés (comparer les nombres d'une même colonne ; soit la 8^e^, soit la 9^e^). Si l'on compare les nombres de la colonne 8 ou de la colonne 9, on constate que la virulence ne s'accroît pas aussi régulièrement qu'on semble l'admettre généralement. La comparaison des résultats des expériences XV et XVI (15^e^ et 1^er^ passages) ne permet pas de conclure à un accroissement sensible de la virulence du Coccobacille pour les chenilles d'**Euproctis.** Celui de premier passage tue approximativement dans le même temps que celui de 15^e^ passage aux différents taux de dilution expérimentés. D'autre part, on peut constater, dans un cas comme dans l'autre, que la dilution au 1/100.000^e^ représente la dilution-limite susceptible de provoquer une mortalité de 100 % parmi les chenilles inoculées.

La température, dans les limites où elle a varié durant tout le temps des expériences, ne paraît pas avoir eu d'influence sensible sur la durée d'évolution de la maladie ; en effet, les nombres les plus bas des colonnes 8 et 9 du tableau I ne coïncident nullement avec les moyennes les plus hautes de la colonne 3 (Voir aussi la courbe de la figure 95).

On pourrait croire que les différences dans la durée moyenne de la maladie, au cours des passages, sont dues à l'état biologique des chenilles inoculées, mais alors il n'y aurait pas correspondance dans le sens, sinon dans l'amplitude des variations aux différentes dilutions ; autrement dit, les hautes ou les basses moyennes de la colonne 8 ne corres-

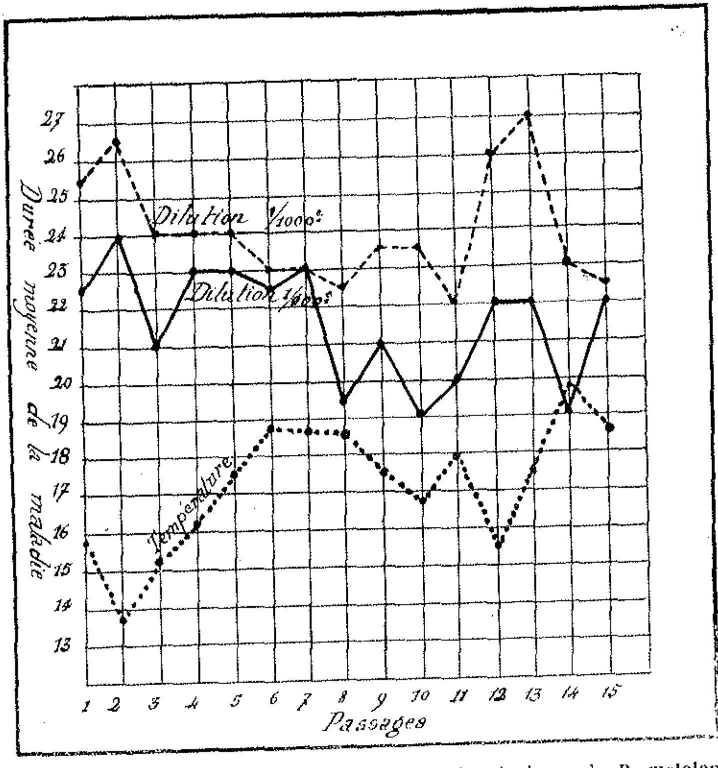



**Fig. 95.** — Courbe représentant les variations de la virulence du **B. melolonthae liquefaciens** « pour les chenilles d'E. **chrysorrhœa** à la suite de passages successifs par l'organisme de ces chenilles.

pondraient pas toujours exactement aux hautes et basses moyennes de la colonne 9. Par exemple, au 2e, au 4e et au 5e passages, les durées moyennes de la maladie, pour les chenilles inoculées avec l'émulsion au 1/100e, sont respectivement de 24, 23 et 23 heures et, pour celles inoculées avec l'émulsion au 1/1.000e, de 26 heures et demie, 24 heures et 24 heures ; aux 3e et 6e passages, la durée diminue pour les deux dilutions : 21 heures et 24 heures pour le 3e ; 22 heures et demie et 23 heures pour le 6e passage.

TABLEAU I

| Numéro de l'Expérience | Date et Heure | Température diurne, noct. et moy. | DURÉE DE LA MALADIE | | | | DURÉE MOYENNE | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Dilution 1/100e | Dilution 1/1.000e | Dilution 1/10.000e | Dilution 1/100.000e | Dilution 1/100e | Dilution 1/1.000e | Dilution 1/10.000e | Dilution 1/100.000e |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| I<br>1er passage | 19 mai<br>19 h. | 17°2<br>10°2<br>15°1 | 1 ch. 19 h. 1/2<br>2 ch. 23 h.<br>1 ch. 26 h. | 1 ch. 24 h.<br>1 ch. 30 h. | 4 ch. 34 h. | | 22 h. 1/2 | 25 h. 1/2 | 34 h. | |
| II<br>2e passage | 20 mai<br>19 h. | 17°6<br>10°<br>13°8 | 4 ch. 24 h. | 3 ch. 26 h.<br>1 ch. 28 h. | | | 24 h. | 26 h. 1/2 | | |
| III<br>3e passage | 21 mai<br>21 h. | 20°1<br>10°5<br>15°3 | 4 ch. 21 h. | 1 ch. 21 h. 1/2<br>1 ch. 23 h. 1/2<br>2 ch. 26 h. | | | 21 h. | 24 h. | | |
| IV<br>4e passage | 22 mai<br>20 h. | 21°2<br>11°2<br>16°2 | 3 ch. 22 h.<br>1 ch. 26 h. | 2 ch. 23 h.<br>1 ch. 24 h.<br>1 ch. 26 h. | | | 23 h. | 24 h. | | |
| V<br>5e passage | 23 mai<br>19 h. | 21°8<br>13°4<br>17°6 | 2 ch. 22 h.<br>2 ch. 24 h. | 2 ch. 23 h. 1/2<br>2 ch. 24 h. | | | 25 h. | 24 h. | | |
| VI<br>6e passage | 24 mai<br>18 h. 1/2 | 22°9<br>14°8<br>18°8 | 4 ch. 22 h. 1/2 | 3 ch. 22 h. 1/2<br>1 ch. 25 h. | | 3 ch. 37 h.<br>1 ch. 39 h. | 22 h. 1/2 | 23 h. | | 38 h. |
| VII<br>7e passage | 25 mai<br>18 h. | 22°4<br>15°<br>18°7 | 4 ch. 23 h. | 4 ch. 23 h. | | | 23 h. | 23 h. | | |
| VIII<br>8e passage | 26 mai<br>18 h. | 21°2<br>15°8<br>18°5 | 4 ch. 19 h. 1/2 | 1 ch. 19 h. 1/2<br>1 ch. 22 h.<br>2 ch. 24 h. 1/2 | | | 19 h. 1/2 | 22 h. 1/2 | | |
| IX<br>9e passage | 27 mai<br>14 h. 1/2 | 21°5<br>13°5<br>17°5 | 4 ch. 21 h. | 3 ch. 23 h.<br>1 ch. 24 h. 1/2 | | | 21 h. | 23 h. 1/2 | | |
| X<br>10e passage | 28 mai<br>12 h. | 20°2<br>13°4<br>16°8 | 2 ch. 18 h.<br>1 ch. 19 h.<br>1 ch. 23 h. 1/2 | 2 ch. 23 h.<br>2 ch. 24 h. | | | 19 h. | 23 h. 1/2 | | |
| XI<br>11e passage | 29 mai<br>12 h. | 23°<br>12°8<br>17°9 | 3 ch. 20 h.<br>1 ch. 21 h. | 2 ch. 21 h.<br>1 ch. 22 h.<br>1 ch. 23 h. | | | 20 h. | 22 h. | | |
| XII<br>12e passage | 30 mai<br>10 h. | 17°2<br>14°<br>15°6 | 4 ch. 22 h. | 4 ch. 26 h. | | | 22 h. | 26 h. | | |
| XIII<br>13e passage | 31 mai<br>8 h. 1/2 | 21°5<br>13°7<br>17°6 | 2 ch. 21 h.<br>2 ch. 23 h. | 4 ch. 27 h. | | | 22 h. | 27 h. | | |
| XIV<br>14e passage | 1er juin<br>12 h. | 22°8<br>16°8<br>19°8 | 2 ch. 18 h.<br>2 ch. 10 h. | 3 ch. 23 h.<br>1 ch. 24 h. | | | 19 h. | 23 h. | | |
| XV<br>15e passage | 2 juin<br>8 h. 45 | 21°<br>16°4<br>18°7 | 3 ch. 21 h. 1/2<br>1 ch. 23 h. | 3 ch. 21 h. 1/2<br>1 ch. 27 h. | 1 ch. 26 h.<br>1 ch. 32 h.<br>2 ch. 34 h. | 1 ch. 30 h.<br>3 ch. 34 h. | 22 h. | 22 h. 1/2 | 32 h. | 33 h. |
| XVI<br>16e passage | 2 juin<br>9 h. | 18°7 | 3 ch. 21 h. 1/2<br>1 ch. 25 h. | 3 ch. 23 h. 1/2<br>1 ch. 27 h. | 1 ch. 26 h.<br>1 ch. 32 h.<br>1 ch. 34 h.<br>1 ch. 35 h. | 1 ch. 32 h.<br>1 ch. 34 h.<br>2 ch. 36 h. | 22 h. 1/2 | 24 h. | 32 h. | 35 h. |

**2° Variations de la virulence de B. lymantricola adiposus pour les chenilles de Lymantria dispar.**

Douze passages successifs ont été effectués. L'expérience n'a pas la même précision que la précédente, mais les résultats qu'elle fournit au point de vue des variations de la virulence sont des plus intéressants. La virulence du Bacille pour les chenilles de **L. dispar** est d'emblée très grande ; les chenilles meurent en sept heures au premier passage, en 5 heures au 2e ; puis de nouveau en 7 heures aux 3e et 4e passages ; à partir du 6e passage, la virulence baisse brusquement pour se relever ensuite aux 9e et 10e passages mais sans atteindre cependant la valeur primitive ; enfin, elle baisse de nouveau à partir du 11e passage. Les variations de la température ne sauraient expliquer ces variations de la virulence ; en effet, la température moyenne s'est maintenue élevée jusqu'au 24 juin alors que la virulence était déjà diminuée. On doit donc admettre que la chenille qui a fourni le virus de 6e passage a diminué très sensiblement la vitalité du Bacille de 5e passage et que cette modification est persistante.

La différence des durées moyennes de la maladie après le 1er et le 12e passages est assez considérable pour qu'on puisse conclure à une atténuation de la virulence du Bacille à la suite de plusieurs passages successifs par le même hôte. Cette conclusion ne s'accorde guère avec la notion classique de l'exaltation de la virulence des microbes ; mais il ne faut pas oublier que nous avons affaire ici à des Bactéries vivant dans un milieu essentiellement différent de celui des Vertébrés supérieurs ; les règles générales qui sont valables pour ces parasites d'animaux supérieurs ne le sont pas nécessairement pour ceux des êtres d'organisation plus simple.

L'examen du tableau II nous permet de constater que la durée moyenne de la maladie peut varier considérablement d'un individu à un autre, même lorsque ces individus sont inoculés avec des microbes de même origine : c'est ainsi que les chenilles inoculées le 20 juin avec microbes de premier passage sont mortes beaucoup plus tôt que celles inoculées le 26 juin également avec Bacilles de premier passage. Ces constatations, comme les précédentes, paraissent un argument en faveur de l'influence prépondérante du facteur hôte. Dans le rapport qui exprime la virulence, la variable **h** aurait donc une influence prépondérante ; en d'autres termes, la valeur de ce rapport serait surtout fonction du terme **h**. Mais il y a lieu de considérer aussi que les variations de **h** entraînent

TABLEAU II

| N° de l'Expérience | Date et heure de l'Inoculation | Température | DURÉE DE LA MALADIE | | DURÉE MOYENNE | | Observations |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Dilution 1/10e | | Dilution 1/10e | | |
| I 1er passage | 20 juin 10 h. | jour 27,6 nuit 21.4 moy. 25.5 | | | 7 h. | | La température moyenne de nuit est comptée de 19 h. à 7 h. le lendemain. |
| II 2e passage | 20 juin 17 h. 1/2 | | | | 5 h. | | |
| III 3e passage | 20 juin 22 h. | | | | 7 h. | | |
| IV 4e passage | 21 juin 7 h. | jour 25. nuit 16.4 moy. 20.7 | | | 7 h. | | |
| V 5 passage | 21 juin 14 h. | | | | 5 h. | | |
| VI 6e passage | 21 juin 18 h. | | | | 17 h. | | |
| VII 7e passage | 22 juin 12 h. | jour 20.3 nuit 16.9 moy. 18.6 | | | 22 h. | | |
| VIII 8e passage | 23 juin 11 h. | jour 22.3 nuit 15.2 moy. 18.7 | | | 21 h. | | |
| IX 9e passage | 24 juin 9 h. 1/2 | jour 15.3 nuit 11.8 moy. 13.5 | | | 14 h. | | |
| X 10e passage | 24 juin 22 h. | | | | 14 h. | | |
| XI 11e passage | 25 juin 12 h. | jour 13.8 nuit 11.1 moy 12.4 | | | 18 h. | | |
| XII 12e passage | 26 juin 9 h. 3/4 | jour 10.6 nuit 11.6 moy. 11.1 | Dilution 1/100e — 3 ch. 22 h. 1 ch. 25 h. | Dilution 1/100.000e — 2 ch. 29 h. 1 ch. 31 h. 1 ch. 36 h. | Dilution 1/100e — 23 h. | Dilution 1/100.000e — 34 h. | |
| XIII 13e passage | 26 juin 9 h. 3/4 | | 1 ch. 24 h. 1 ch. 29 h. 2 surviv. | 3 ch. 29 h. 1 survivante | | | |

des variations de **p** ; celles-ci peuvent être d'amplitude plus grande que les variations de **h**, de sorte que dans le rapport **p/h**, le terme **p** peut être celui qui détermine sa valeur. Ces considérations théoriques montrent

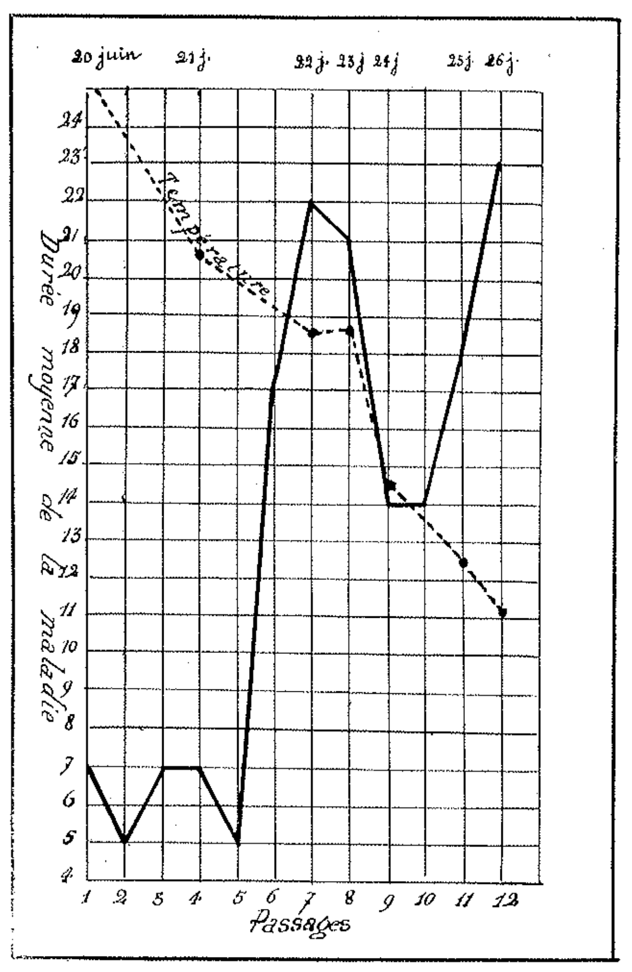



Fig. 96. — Courbe représentant les variations de la virulence du B lymantricola adiposus pour les chenilles de L. dispar

combien il est difficile d'attribuer au facteur parasite ou au facteur hôte l'influence prédominante dans l'exaltation ou l'atténuation de la virulence du microbe.

Les autres expériences qui ont été faites confirment les conclusions générales que j'ai tirées des deux premières.



**3° Variations de la virulence de B. melolonthæ liquefaciens α pour les chenilles de Vanessa urticæ L.**

Après vingt-trois passages successifs, le Bacille tuait les chenilles en 7 ou 10 heures, c'est-à-dire en un temps qui était sensiblement le même que celui constaté au cours des premiers passages.

**4° Variations de la virulence de B. lymantricola adiposus pour les chenilles d'E. chrysorrhœa.**

Le graphique de la figure 97 donne les variations de la virulence au

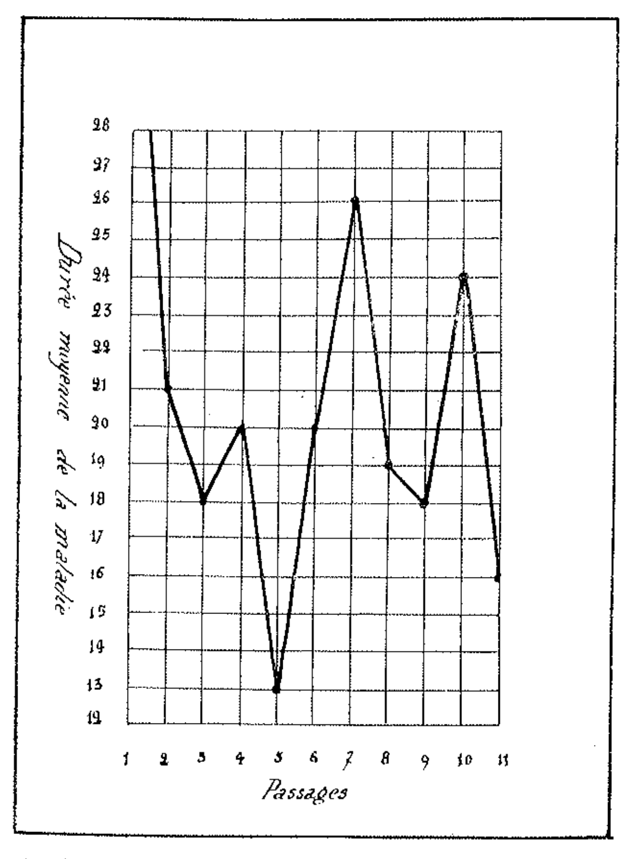



Fig. 97. — Courbe représentant les variations de la virulence du B lymantricola adiposus pour les chenilles d'E. chrysorrhœa.

cours des passages successifs. Comme dans l'expérience décrite plus haut, on peut remarquer que la virulence, après un relèvement sensible, s'a-

baisse brusquement ; les variations successives sont désordonnées. Au cinquième passage, la durée moyenne de la maladie est la plus basse qui ait été enregistrée ; la virulence du Bacille baisse ensuite, puis s'élève à nouveau mais sans atteindre son intensité maximum.

**5° Variations de la virulence du Bac. lymantriæ α pour les chenilles de L. dispar.**

Comme dans les expériences précédentes, la courbe qui représente

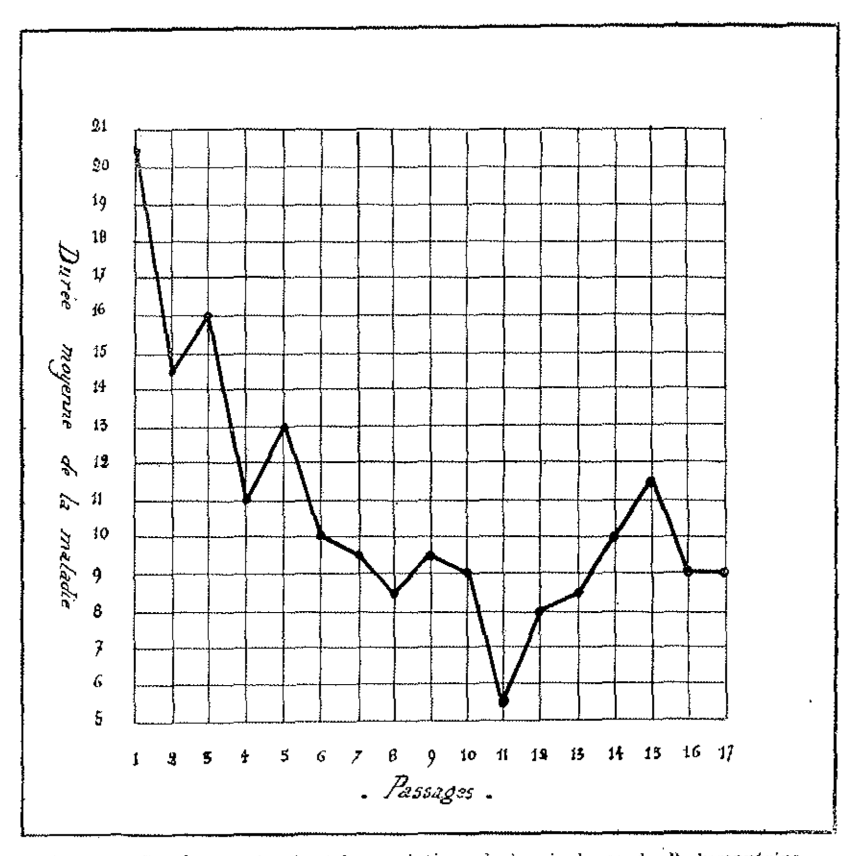



Fig. 98. — Courbe représentant les variations de la virulence du B. lymantriæ α pour les chenilles de L. dispar

les variations d'intensité de la virulence au cours des passages est des plus irrégulières (Fig. 98).

Dans toutes les expériences qui viennent d'être décrites, les micro-



bes inoculés peuvent être considérés comme très pathogènes pour les différentes chenilles choisies comme sujets d'expériences. J'ai expérimenté aussi un certain nombre d'autres Bactéries moins pathogènes afin d'étudier la possibilité de renforcer leur virulence.

**6° Variations de la virulence du Bacillus hoplosternus pour les chenilles de L. dispar.**

Cinq passages seulement ont été effectués ; il n'apparaît pas que la

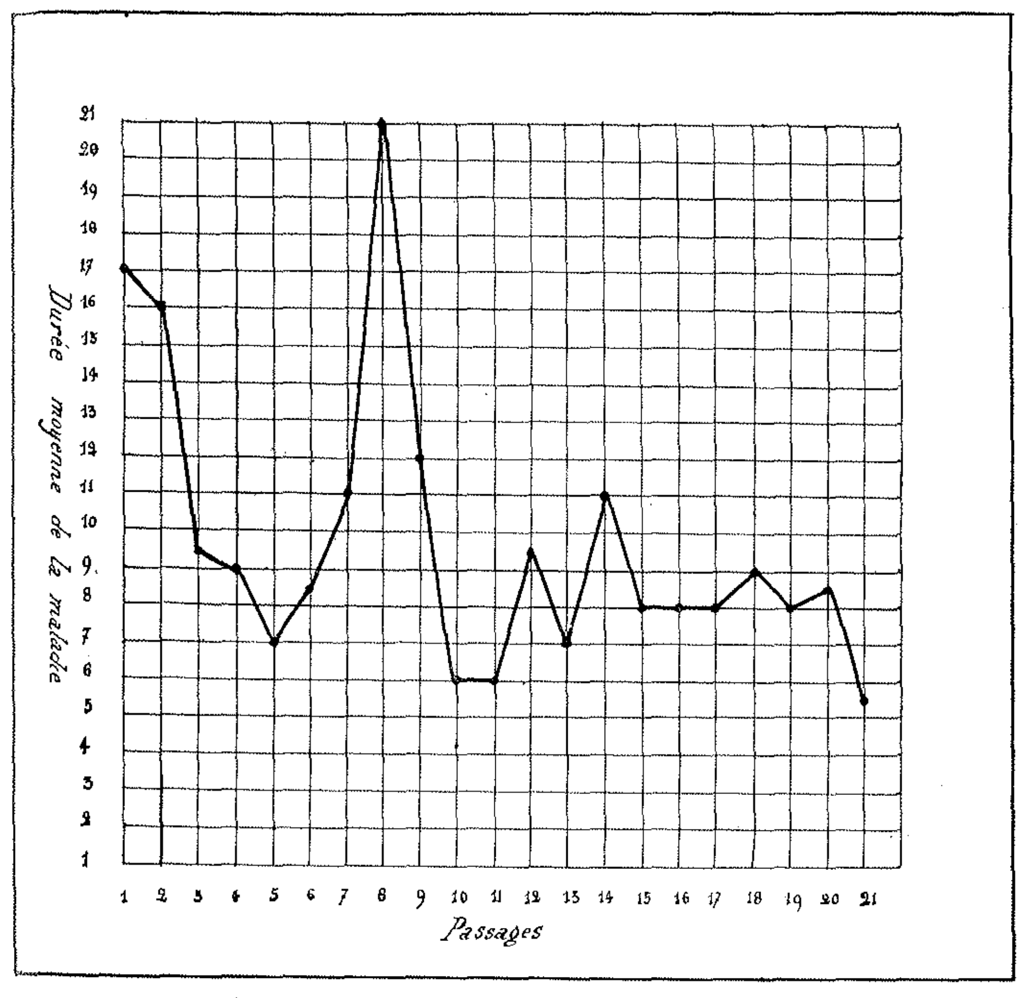



Fig. 99. — Courbe représentant les variations de la virulence du C. acridiorum pour le Criquet pèlerin (d'après d'Hérelle).

virulence se soit modifiée, une certaine proportion de chenilles résistant à l'infection après le cinquième passage comme après le premier.

Les mêmes résultats négatifs ont été obtenus avec le **Diplococcus bombycis.**

Si l'on se reporte d'autre part aux expériences faites par d'autres auteurs, en particulier par d'HERELLE, VELU et BOUIN (exaltation de la virulence du **C. acridiorum** pour le Criquet), on constate aussi que des conclusions analogues peuvent être tirées de l'examen comparatif des résultats obtenus au cours des différents passages.

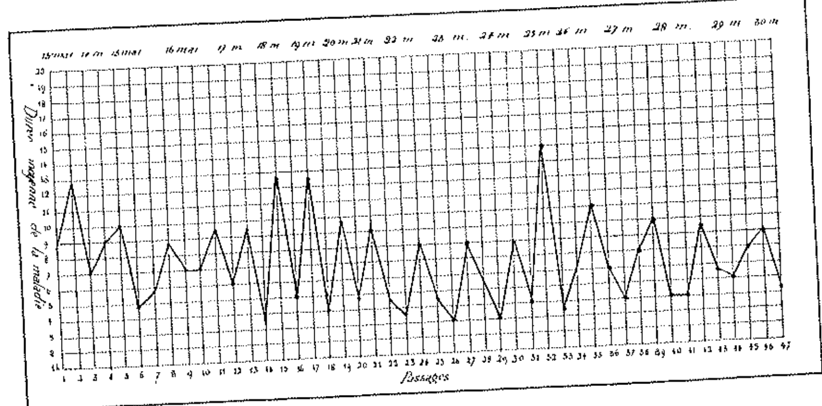



**Fig. 100.** — Courbe représentant les variations de la virulence du **C. acridiorum** pour le Criquet marocain (d'après Vélu et Bouin).

Ainsi, dans un des tableaux publiés par d'HERELLE et reproduit ci-après (Tableau III), on voit que les premières Sauterelles inoculées meurent en 10 heures et que d'autres de la même série succombent en vingt-quatre heures ; au deuxième passage, les premières meurent après 9 heures et les dernières, après 23 heures seulement. Le graphique de la figure 99 représentant la courbe des variations de la virulence d'après les résultats obtenus par D'HERELLE présente de grandes analogies avec ceux qui ont été reproduits plus haut.

Le tableau de VELU et BOUIN (Tableau IV) ainsi que le graphique reproduit d'après ce tableau (Fig. 100) font ressortir aussi l'irrégularité, déconcertante au premier abord, des variations de la virulence du Coccobacille pour le Criquet. Les deux auteurs expliquent cette irrégularité par les variations considérables de la température au cours d'une même

TABLEAU III

| Numéros | Dates | Heures | Passages | Nombre de Sauterelles | Dilution du virus injecté | Les premières meurent après | Les dernières meurent après | Durée moyenne de la maladie | Nombre de sauterelles mortes | Mortalités p. 0/0 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mars | | | | | Heures | Heures | Heures | | |
| 1 | 24 | 10 | 1 | 30 | pur | 10 | 24 | 17 | 23 | 76 |
| 2 | 25 | 10 | 2 | 30 | pur | 9 | 23 | 16 | 29 | 96 |
| 3 | 26 | 9 | 3 | 24 | 1/2 | 8 | 11 | 9 1/2 | 22 | 91 |
| 4 | 26 | 9 | 4 | 11 | 1/3 | 8 | 10 | 9 | 11 | 100 |
| 5 | 27 | 10 | 5 | 17 | 1/4 | 6 | 7 1/2 | 7 | 16 | 94 |
| 6 | 27 | 20 | 6 | 20 | 1/5 | 7 | 10 | 8 1/2 | 20 | 100 |
| 7 | 28 | 14 | 7 | 16 | 1/6 | 7 | 15 | 11 | 16 | 100 |
| 8 | 28 | 23 1/2 | 8 | 21 | 1/7 | 15 | 27 | 21 | 21 | 100 |
| 9 | 29 | 9 | 8 | 12 | pur | 5 | 7 | 6 | 12 | 100 |
| 10 | 29 | 16 1/2 | 9 | 13 | 1/8 | 9 | 15 | 12 | 11 | 84 |
| 11 | 29 | 17 1/2 | 9 | 11 | 1/6 | 8 | 14 | 11 | 10 | 91 |
| 12 | 30 | 9 | 10 | 30 | 1/9 | 5 | 7 | 6 | 28 | 93 |
| 13 | 30 | 9 | 10 | 13 | 1/10 | 5 1/2 | 8 1/2 | 6 1/2 | 13 | 100 |
| 14 | 30 | 16 | 11 | 30 | 1/10 | 4 1/2 | 7 | 6 | 30 | 100 |
| 15 | 30 | 16 1/2 | 11 | 30 | 1/10 | 5 | 8 | 6 1/2 | 30 | 100 |
| 16 | 30 | 24 | 12 | 17 | 1/10 | 8 | 11 | 9 1/2 | 17 | 100 |
| 17 | 31 | 1 | 12 | 30 | 1/10 | 6 | 8 | 7 | 30 | 100 |
| 18 | 31 | 11 | 13 | 30 | 1/10 | 5 1/2 | 9 | 7 | 30 | 100 |
| 19 | 31 | 14 | 13 | 30 | 1/10 | 3 | 12 | 7 1/2 | 30 | 100 |
| 20 | 31 | 22 | 14 | 30 | 1/10 | 6 1/2 | 15 | 11 | 25 | 100 |
| 21 | 1 | 9 | 14 | 25 | 1/10 | 4 1/2 | 16 | 10 | 25 | 100 |
| 22 | 1 | 15 | 15 | 25 | 1/10 | 5 | 10 | 8 | 25 | 100 |
| 23 | 1 | 22 1/2 | 15 | 25 | 1/10 | 7 | 11 | 9 | 23 | 97 |
| 24 | 2 | 10 | 16 | 25 | 1/10 | 6 | 9 1/2 | 8 | 25 | 100 |
| 25 | 2 | 14 1/2 | 16 | 25 | 1/10 | 5 1/2 | 10 1/2 | 8 | 25 | 100 |
| 26 | 2 | 22 1/2 | 17 | 25 | 1/10 | 5 1/2 | 10 1/2 | 8 | 25 | 100 |
| 27 | 3 | 7 1/2 | 17 | 25 | 1/10 | 5 1/2 | 8 1/2 | 7 | 25 | 100 |
| 28 | 3 | 14 | 18 | 25 | 1/10 | 6 | 12 | 9 | 25 | 100 |
| 29 | 3 | 20 | 18 | 25 | 1/10 | 5 | 11 | 8 | 24 | 96 |
| 30 | 4 | 9 | 19 | 25 | 1/10 | 4 | 12 | 8 | 23 | 92 |
| 31 | 4 | 10 | 19 | 25 | 1/10 | 6 | 13 | 9 1/2 | 25 | 100 |
| 32 | 4 | 22 | 20 | 12 | 1/10 | 6 | 11 | 8 1/2 | 12 | 100 |
| 33 | 4 | 22 1/2 | 20 | 12 | 1/5 | 4 | 9 | 6 1/2 | 12 | 100 |
| 34 | 5 | 14 1/2 | 21 | 25 | 1/10 | 3 | 8 | 5 1/2 | 25 | 100 |

(D'après d'HÉRELLE).

TABLEAU IV

| Dates | Passages | Dilution | Heures de l'injection | Durée moyenne de la maladie | Observations |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | **SÉRIE B** | | |
| 13 mai | 1° | Pur | 7 h. 1/2 | 8 h. 2/3 | Bouillon de 5 jours ½ provenant du 9e passage d'une série A. |
| — — | 2° | 1/2 | 17 h. 1/2 | 12 h. 3/4 | |
| 14 — | 3° | 1/2 | 7 h. 1/2 | 7 heures | |
| — — | 4° | 1/3 | 18 h. 1/2 | 9 — | |
| 15 — | 5° | 1/4 | 1 heure | 10 — | |
| — — | 6° | 1/4 | 12 h. 1/2 | 4 h. 3/4 | |
| — — | 7° | 1/5 | 18 h. 3/4 | 5 h. 1/2 | |
| 16 — | 8° | 1/5 | 0 h. 3/4 | 8 h. 3/4 | |
| — — | 9° | 1/4 | 13 h. 1/4 | 7 heures | |
| — — | 10° | 1/5 | 22 heures | 7 — | |
| 17 — | 11° | 1/6 | 8 — | 5 — | |
| — — | 12° | 1/7 | 14 h. 1/2 | 6 — | |
| — — | 13° | 1/8 | 22 heures | 9 h. 1/4 | |
| 18 — | 14° | 1/8 | 13 h. 1/2 | 3 h. 1/2 | |
| — — | 15° | 1/9 | 22 heures | 12 h. 1/2 | |
| 19 — | 16° | 1/9 | 14 — | 5 heures | |
| — — | 17° | 1/10 | 23 — | 12 h. 1/4 | |
| 20 — | 18° | 1/10 | 13 h. 1/2 | 4 heures | |
| — — | 19° | 1/10 | 22 heures | 9 h. 3/4 | |
| 21 — | 20° | 1/10 | 13 — | 4 h. 3/4 | |
| — — | 21° | 1/10 | 18 h. 1/2 | 9 heures | |
| 22 — | 22° | 1/10 | 6 h. 1/2 | 4 h. 1/2 | |
| — — | 23° | 1/10 | 13 heures | 3 h. 1/2 | |
| — — | 24° | 1/10 | 21 h. 1/2 | 8 heures | |
| 23 — | 25° | 1/10 | 6 h. 1/2 | 4 h. 1/2 | |
| — — | 26° | 1/10 | 13 h. 1/2 | 3 heures | |
| — — | 27° | 1/10 | 21 heures | 8 — | |
| 24 — | 28° | 1/10 | 7 h. 1/2 | 5 h. 1/2 | |
| — — | 29° | 1/10 | 14 h. 1/2 | 3 heures | |
| — — | 30° | 1/10 | 22 h. 1/2 | 8 — | |
| 25 — | 31° | 1/10 | 7 h. 1/2 | 4 — | |
| — — | 32° | 1/10 | 13 h. 1/2 | 14 — | Criquets âgés. |
| 26 — | 33° | 1/6 | 7 h. 1/2 | 3 h. 1/2 | |
| — — | 34° | 1/6 | 16 h. 1/2 | 6 heures | |
| — — | 35° | 1/6 | 22 heures | 10 — | |
| 27 — | 36° | 1/6 | 7 — | 6 — | |
| — — | 37° | 1/7 | 13 — | 4 — | |
| — — | 38° | 1/7 | 18 h. 1/2 | 7 — | |
| 28 — | 39° | 1/7 | 0 h. 3/4 | 9 — | |
| — — | 40° | 1/8 | 10 h. 1/2 | 4 — | |
| — — | 41° | 1/9 | 14 h. 1/2 | 4 — | |
| — — | 42° | 1/10 | 22 heures | 8 h. 1/2 | |

(D'après Velu et Bouin).



journée. L'aspect de la courbe semble bien, en effet, justifier cette manière de voir : les séries qui fournissent la moyenne de durée de la maladie la plus élevée sont le plus souvent celles qui ont été inoculées le soir ou pendant la nuit. Les auteurs n'ayant figuré dans leur tableau qu'une seule moyenne par série, on ne peut savoir si la durée de la maladie, pour chaque individu, présente des écarts aussi considérables que ceux que j'ai notés au cours de mes expériences.

## CONCLUSIONS

Des expériences que j'ai faites, on peut tirer les conclusions suivantes :

1° La virulence des microbes entomophytes pour les Insectes appartenant à une même espèce, varie d'individu à individu ; en général, ces variations sont de grande amplitude ; en l'état actuel de nos connaissances, on ne peut attribuer la cause de ces variations aux modifications de la puissance de multiplication du parasite ou de la force de résistance de l'hôte ; à plus forte raison, ne peut-on préciser quelle est la part de chacun des facteurs dans la détermination de la valeur de la virulence et comment se manifeste l'influence de chacun.

2° La virulence ne suit pas une progression régulière au fur et à mesure des passages par individus appartenant à une même espèce ; le sens des variations peut être positif ou négatif ; aucune indication précise ne peut être donnée sur les raisons qui déterminent le sens et l'amplitude de ces variations ; elles sont d'ailleurs très irrégulières et ne paraissent pas obéir à une loi générale.

Ces conclusions paraissent en contradiction avec les lois concernant l'exaltation de la virulence des Bactéries chez les Vertébrés supérieurs ; cette contradiction, si elle existe, s'explique d'ailleurs aisément: d'abord il existe de profondes différences anatomiques, biologiques et physiologiques entre l'organisme d'un Vertébré supérieur et celui d'un Insecte ; ces différences ont une répercussion certaine sur la force de résistance de ces organismes à l'infection bactérienne ; nous verrons en effet que les réactions de défense chez les Insectes ne sont nullement assimilables à celles qui ont été décrites chez les Vertébrés. D'autre part, les Ver-

tébrés supérieurs restent semblables à eux-mêmes pendant une période plus ou moins longue alors que les Insectes, surtout lorsqu'ils sont à l'état larvaire, se transforment pour ainsi dire d'un moment à l'autre ; enfin le milieu intérieur, siège des réactions de défense, est beaucoup plus stable chez les Vertébrés que chez les Insectes.

CHAPITRE XIII

# Anatomie pathologique des maladies bactériennes.

D'une manière générale, les lésions cellulaires et tissulaires causées par la multiplication des Bactéries dans l'organisme sont mal caractérisées ; de même la répercussion sur le fonctionnement normal des organes est difficile à mettre en évidence et on ne peut, comme chez les Vertébrés supérieurs, établir un diagnostic précis sur le simple examen clinique de l'organisme malade. L'infection est généralement localisée dans le sang ; les autres tissus baignant largement dans ce milieu, les cellules subissent toutes en même temps l'action morbide des éléments parasitaires. Dans certains cas cependant, on peut observer que des cellules présentent une sensibilité particulière à l'action des Bactéries ou des produits qu'ils sécrètent. C'est le cas par exemple pour les cellules adipeuses des chenilles de **L. dispar** vis à vis du **B. lymantricola adiposus** et des micronucléocytes d'**E. chrysorrhœa** vis à vis du **B. melolonthæ liquefaciens** $\gamma$.

## ACTION DU B. LYMANTRICOLA ADIPOSUS SUR LE TISSU ADIPEUX DES INSECTES

Comme les autres Coccobacilles entomophytes, le **B. lymantricola adiposus** se développe abondamment dans le sang des Insectes et détermine leur mort rapide par septicémie ; mais à la différence des autres, il s'attaque plus particulièrement au tissu adipeux dont les cellules ma-

nifestent une sensibilité remarquable vis à vis de ce Bacille ou de ses produits de sécrétion.

Si l'on inocule à une chenille de **L. dispar** une goutte d'une émulsion de Bacilles de culture, on observe, quelques heures après le début de la contamination, des globules de graisse en suspension dans le sang ; à mesure que la multiplication des Bacilles se poursuit, la quantité de globules augmente ; moins de 24 heures après l'inoculation, cette quantité devient telle que le sang prend l'aspect laiteux caractéristique du sang des chenilles atteintes de maladie des polyèdres. La ressemblance avec cette dernière maladie est accentuée par le fait que la peau des chenilles se déchire facilement en laissant écouler un liquide épais, de couleur brun-noirâtre après la mort. J'ai donné le nom de pseudo-grasserie à la maladie causée par **B. lymantricola adiposus** en raison de l'analogie des symptômes externes avec ceux de la grasserie typique, mais les deux maladies sont essentiellement différentes, aussi bien au point de vue pathogénique qu'au point de vue anatomo-pathologique. L'attitude des chenilles mortes rappelle aussi l'attitude bien connue des mêmes chenilles atteintes de flacherie (**sensu largo**) : la partie abdominale du corps reste accrochée par les fausse-pattes abdominales, la partie antérieure étant rejetée complètement en arrière.

Lorsque la chenille est en état d'infection très avancée, le tissu adipeux est complètement désorganisé. Si l'on fait une coupe dans une chenille en état d'infection moins avancée, on observe que les bandes de tissu adipeux, formées normalement de plusieurs assises de cellules, sont réduites à une ou deux assises dont un certain nombre de cellules présentent des signes manifestes de lyse. La figure 101 représente un lambeau d'une de ces bandes ; on peut remarquer que la cellule de droite est réduite à un noyau auquel adhère encore une mince couche de cytoplasme ; la membrane de la cellule voisine est en partie disparue. Contrairement à ce qui se passe dans les maladies à ultravirus, aucune altération morphologique bien caractérisée ne peut être mise en évidence dans le noyau ou la couche cytoplasmique ; l'action morbide du microbe se réduit à une simple lyse de la substance cellulaire.

Il semble, à première vue, que cette désorganisation du tissu adipeux soit le résultat de l'action d'une toxine sécrétée par le Bacille ; mais l'existence de cette toxine n'est rien moins que démontrée. En effet, si l'on filtre sur bougie Chamberland une émulsion concentrée de Bacilles de culture et qu'on injecte à plusieurs chenilles une goutte de fil-



trat, il ne se produit aucune altération visible du corps adipeux. De même si l'on fait macérer du tissu adipeux dans le liquide de filtration, on n'observe pas que ce tissu se désorganise comme il le ferait dans l'organisme en état d'infection ; enfin la macération du tissu dans l'émulsion



Fig. 101. — Coupe dans le tissu adipeux d'une chenille de **L. dispar** infestée par le **B. lymantricola adiposus.**

microbienne ou dans du bouillon de culture riche en microbes ne donne pas de résultats comparables à ceux qu'on observe **in vivo.** Malgré ces résultats négatifs, on ne peut conclure de façon absolue à l'absence totale de toxine ; tout au plus peut-on affirmer que cette toxine, si elle existe, est beaucoup moins active que celle élaborée dans le corps même de la chenille.

## ACTION DU B. MELOLONTHÆ LIQUEFACIENS γ SUR LES MICRONUCLÉOCYTES DES CHENILLES D'EUPROCTIS CHRYSORRHŒA

Le **B. melolonthæ liquefaciens** γ, inoculé dans la cavité générale des chenilles d'**E. chrysorrhœa**, détermine une très curieuse réaction dans les micronucléocytes du sang. Moins d'une heure après l'inoculation,

si la culture employée est jeune et si la quantité de Bacilles est suffisante, il apparaît dans le cytoplasme de ces éléments de véritables inclusions plus réfringentes que le protoplasme environnant et qu'il est impossible, à première vue, de différencier des grains de réserves ou plastes existant normalement dans la plupart de ces cellules.

### Etude expérimentale de la réaction.

L'expérience suivante permet de suivre dans tous leurs détails les différentes phases du processus réactionnel :

Quatre chenilles adultes d'**E. chrysorrhœa** sont inoculées le 30 mai 1919, à 14 heures, avec une goutte d'une émulsion concentrée de Bacilles provenant d'une culture sur gélose du 24 mai. Une demi-heure après l'inoculation, les éléments du sang examinés sur frottis colorés par le Giemsa ne présentent aucun signe visible d'altération. Après une heure, on observe dans le cytoplasme de quelques micronucléocytes de l'une des chenilles, de petites inclusions basophiles colorées en bleu légèrement plus foncé que le cytoplasme environnant ; leur nombre est en général très limité ; le diamètre ne dépasse guère 1 μ. Toutes ont une forme régulièrement arrondie (Fig. 102). Dans le sang des trois autres chenilles, la réaction est plus avancée : la grande majorité des micronucléocytes renferment des inclusions et le nombre de celles-ci, pour chaque cellule, est sensiblement plus élevé que dans les micronucléocytes de la première chenille examinée. Après deux heures, le nombre des micronucléocytes à inclusions a fortement augmenté dans le sang de la première chenille ; le nombre des inclusions dans chaque cellule est aussi en augmentation sensible ; enfin les dimensions moyennes des inclusions sont notablement plus grandes. Presque toutes les inclusions présentent encore la réaction basophile, mais on peut déjà observer qu'une petite proportion d'entre eux ont tendance à perdre cette basophilie pour devenir amphophiles (coloration pourpre foncée par le Giemsa). Dans le sang des chenilles N° 2, 3 et 4, l'amphophilie est presque générale. Après trois heures, l'amphophilie est encore peu marquée dans le sang de la chenille N° 1 ; les inclusions sont généralement de grandes dimensions et tous les micronucléocytes en sont pourvus.

Après 4 heures et demie, l'amphophilie est devenue à peu près générale, à l'exception d'un petit nombre d'inclusions qui ont conservé la réaction basophile et d'un certain nombre d'autres qui présentent déjà plus ou moins nettement la réaction éosinophile. On trouve peu de Bacilles libres en voie de multiplication dans le sang de la chenille N° 1. Dans celui des autres chenilles, la réaction est toujours en avance bien marquée, mais aussi le nombre des Bacilles libres est beaucoup plus grand.



Après 5 heures et demie, dans le sang de la chenille N° 1, les inclusions, dont les dimensions moyennes sont restées à peu près stationnaires, présentent généralement la coloration de la chromatine du noyau ; on ne distingue celui-ci des inclusions de même dimension que par sa structure

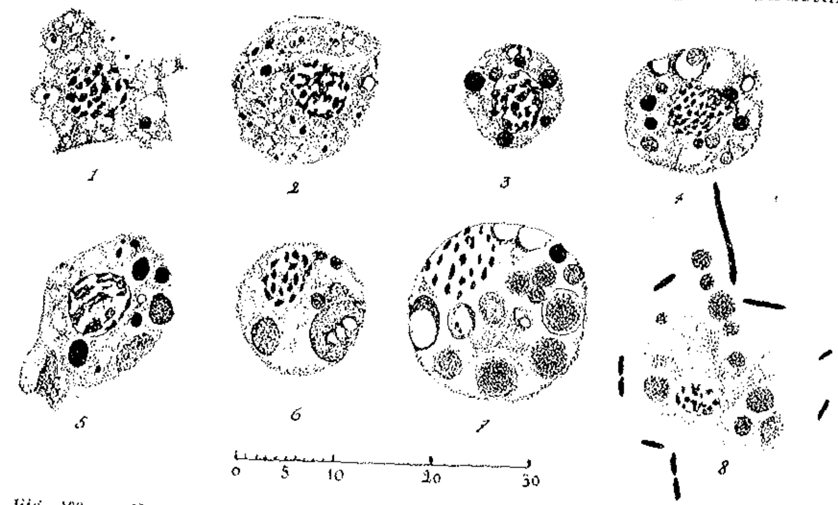



Fig. 102. — Formation des inclusions cytoplasmiques dans les micronucléocytes des chenilles d'E. **chrysorrhœa** infestées par **B. melolonthae liq.** γ

en grains. La coloration des inclusions est, en général, uniforme dans toute la masse ; quelques unes cependant sont plus intensément colorées à la périphérie que dans la région centrale. Un certain nombre affectent la forme semi-lunaire (Fig. 102, 7) ; les éléments du sang autres que les micronucléocytes paraissent normaux.

A une phase plus avancée de la réaction, lorsque les microbes pullulent dans le sang, les micronucléocytes se désorganisent ; les inclusions, si elles ne sont pas déjà fondues dans la masse de la cellule, sont mises en liberté dans le sang; peu après, elles disparaissent par un processus que je n'ai pu mettre en évidence ; elles forment alors, sur les frottis colorés, des taches à peine rosées dont les contours sont plus ou moins indécis. Les autres éléments du sang se désorganisent en dernier lieu, lorsqu'il n'y a déjà plus trace de micronucléocytes.

Les tissus autres que le sang ne participent pas à la réaction ; sur coupes fixées au picro-formol de Bouin ou au picro-formol alcoolique, et colorées à l'hématoxyline ferrique ou à l'hémalun, les inclusions apparaissent exclusivement dans le cytoplasme des micronucléocytes. Elles retiennent assez bien l'hématoxyline et ressemblent aux inclusions de nature albuminoïde qui se forment dans les mêmes cellules au moment de la mue ou de la nymphose ; mais il n'y a rien de commun entre les deux phénomènes.

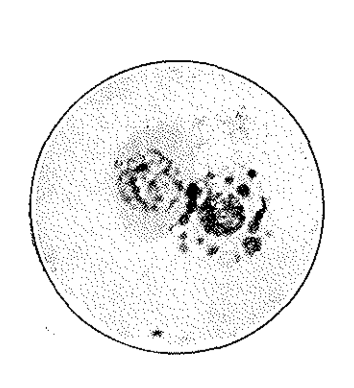


Fig. 103.

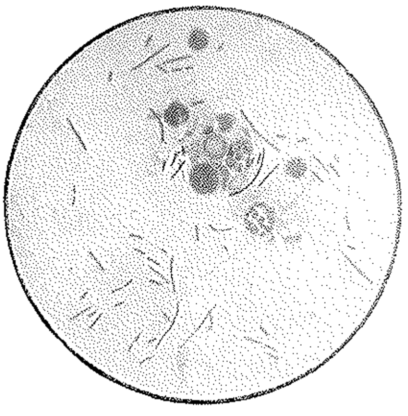


Fig. 104.

Fig. 103 et 104. — Réaction observée dans les micronucléocytes de chenilles d'E. **chrysorrhœa** après inoculation de B. **melolonthae liquefaciens** γ 2 heures et 9 heures après l'inoculation.

Au fur et à mesure que les inclusions augmentent de volume, le cytoplasme des micronucléocytes se désorganise ; lorsqu'elles ont atteint leur maximum de développement, elles occupent la majeure partie de la couche cytoplasmique ; le cytoplasme ne forme plus alors que de petits îlots à peine teintés par le colorant et sans structure définie.

La transformation du cytoplasme a pour cause le microbe inoculé ou, plus exactement, une toxine sécrétée par ce Bacille. En effet si l'on filtre sur bougie de porcelaine une émulsion concentrée de culture microbienne et qu'on inocule une goutte de filtrat dans la cavité générale de plusieurs chenilles d'**Euproctis**, on détermine chez toutes une réaction identique avec celle qui vient d'être décrite. On peut noter toutefois que la coloration des inclusions cytoplasmiques est beaucoup moins intense que dans le sang des chenilles infectées avec le microbe lui-même ; même, dans un



certain nombre de micronucléocytes, on n'observe pas d'inclusions proprement dites, mais de simples taches cytoplasmiques à peine teintées de rose et à contours indécis.

En général, les micronucléocytes résistent à l'action de la toxine microbienne ; les inclusions finissent par disparaître du cytoplasme et la cellule reprend son aspect normal.

### Propriétés de la toxine sécrétée par le B. melolonthæ liquefaciens γ.

Le caractère le plus remarquable de cette toxine est sa grande spécificité ; en effet les seules cellules de l'organisme qui soient sensibles à son action sont les micronucléocytes. Cette grande spécificité rappelle celle de la toxine tétanique qui se fixe électivement sur les cellules nerveuses de l'Homme et des autres Vertébrés supérieurs ; mais les répercussions sur l'organisme sont de toute autre nature : si en effet, l'injection de toxine tétanique, même à très faible dose, à des animaux très réceptifs détermine rapidement leur mort par lésion grave du système nerveux, celle de toxine du **B. melolonthae liquefaciens** γ aux chenilles d'**Euproctis** est incapable à elle seule d'entraîner leur mort ; elle ne cause même qu'exceptionnellement la mort des micronucléocytes.

Au point de vue de la toxicité, il y a une différence très nette entre la toxine de culture et celle élaborée dans l'organisme vivant. Pour obtenir la réaction avec le filtrat de culture, il est nécessaire d'utiliser une émulsion très concentrée et d'inoculer une grosse goutte de filtrat ; malgré ces précautions, il arrive souvent que la chenille inoculée réagit mal ou même ne réagit pas du tout. Avec le microbe vivant, au contraire, il suffit d'inoculer une petite goutte d'émulsion peu concentrée pour obtenir rapidement et sûrement la formation d'inclusions douées d'une grande affinité pour les colorants basiques ou acides.

On pourrait objecter que la multiplication rapide du microbe, correspondant à une sécrétion abondante de toxine, explique suffisamment la rapidité et l'intensité de la réaction ; mais le microbe ne se multiplie pas aussitôt après qu'il est introduit dans la cavité générale de la chenille ; on observe toujours un temps d'arrêt plus ou moins long dans la vie active du Bacille à partir du moment où on l'inocule ; or la réaction commence pendant cette période de latence et on peut observer la formation des inclusions et même leur coloration caractéristique avant

qu'il soit possible de trouver un seul Bacille libre en voie de multiplication.

### Influence de la chaleur.

Le produit bactérien qui agit spécifiquement sur les micronucléocytes des chenilles d'**Euproctis** est assez sensible à l'action de la chaleur : le chauffage prolongé à 55° ou même à 53° d'une émulsion bactérienne détruit à peu près complètement ses propriétés cytotoxiques.

Le mécanisme de l'action de la toxine est encore inexpliqué. Y a-t-il désintégration de la substance protoplasmique sous l'influence directe de la toxine et formation de substance à structure moins complexe ? ou bien les inclusions sont-elles constituées par des mollécules plus complexes que celles dont est composé le protoplasme ? En d'autres termes, la réaction est-elle assimilable à une décomposition ou à une synthèse ? La question ne peut être résolue maintenant ; mais ce qui paraît incontestable, c'est le passage de la toxine du sang dans l'intérieur des micronucléocytes et son action directe sur la composition chimique et physico-chimique du protoplasme. Le processus lui-même nous échappe ; l'examen à l'état frais ou après coloration nous renseigne seulement sur les modifications physiques de la substance cytoplasmique et sur les changements survenus dans ses affinités pour les colorants ; il nous montre en particulier que cette substance se transforme d'abord en masses arrondies, de volume variable, dont la tension superficielle est très différente de celle du protoplasme environnant, dont l'indice de réfraction est sensiblement plus élevé ; il nous montre aussi que le terme de l'évolution chimique des inclusions paraît être marqué par la fonte, dans le plasma sanguin, de leur substance propre ; mais entre ces deux termes extrêmes, protoplasme et sang, les états intermédiaires nous sont inconnus.

### Action de la toxine sur chenilles autres que celles d'Euproctis.

Les chenilles de Livrée (**Malacosoma neustria**) réagissent d'une manière analogue à celles d'**Euproctis** ; cependant, la réaction n'est ni aussi rapide ni aussi intense ; les inclusions qui se forment dans les micronucléocytes restent petites et n'apparaissent que tardivement (Fig. 105) ; en outre, elles ont moins d'affinité pour les matières colorantes basiques ou acides que les inclusions des micronucléocytes d'**Euproctis**.



L'inoculation d'une grosse goutte d'émulsion microbienne filtrée détermine une très faible réaction.

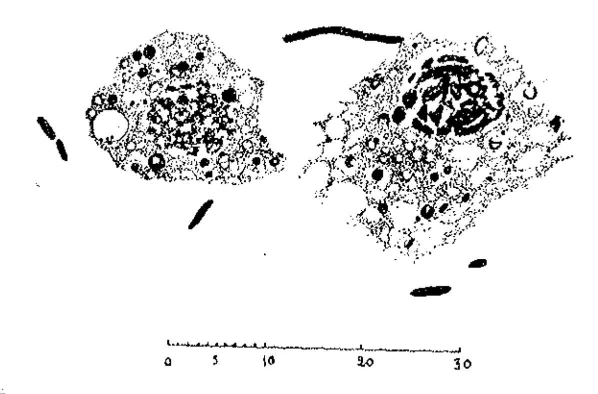



Fig. 105. — Micronucléocytes de chenille de Livrée (**Malacosoma neustria**) 8 heures après l'inoculation de **B. melolonthae liquefaciens** $\gamma$.

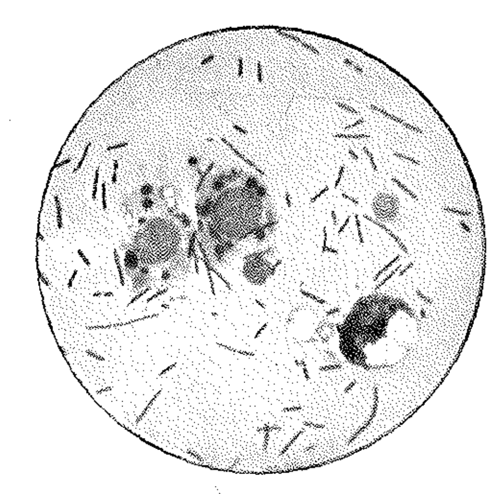


Fig. 106. — Sang de chenille de **Malacosoma neustria** 12 heures après injection de **B. melolonthae liquefaciens** $\gamma$ dans la cavité générale.

Toutes les autres espèces de chenilles expérimentées ne présentent pas la réaction caractéristique des micronucléocytes.

### Action de quelques Coccobacilles entomophytes sur les micronucléocytes des chenilles d'Euproctis.

**B. melolonthæ liquefaciens** γ n'est pas le seul Coccobacille capable de provoquer la formation d'inclusions cytoplasmiques dans les micronucléocytes des chenilles d'**Euproctis** ; un certain nombre d'autres espèces, dont **B. melolonthæ liquefaciens** β, **B. pieris agilis**, jouissent de propriétés analogues. De ces deux espèces, la première est celle dont la toxine se rapproche le plus, par ses propriétés, de celle du Bacille γ. La différence entre la réaction provoquée par les différentes espèces de Coccobacilles est plutôt quantitative que qualitative.

---

CINQUIÈME PARTIE

# L'IMMUNITÉ ANTIBACTÉRIENNE NATURELLE ET ACQUISE

CHAPITRE XIV

# Considérations générales et historiques.

## L'IMMUNITÉ CHEZ LES VERTÉBRÉS SUPÉRIEURS

Avant d'aborder l'étude du problème de l'immunité dans les maladies bactériennes des Insectes, il peut être utile de faire un exposé d'ensemble des principes généraux qui constituent le fondement de l'immunologie générale. Comme il ne s'agit pas de faire ici une étude critique du problème de l'immunité en général, je me bornerai à résumer brièvement l'état actuel de la question d'après les traités les plus récents, en particulier d'après celui de LE BOURDELLES et SÉDALLIAN (Précis d'Immunologie, Paris, Gaston Doin et Cie, 1931).

Le rôle de défense de l'organisme contre les invasions microbiennes est assumé tout d'abord par l'appareil phagocytaire qui comprend, non seulement des cellules libres spécialisées dans cette fonction, mais aussi des cellules fixées (système réticulo-endothélial). Il est assumé également par les liquides organiques qui réagissent contre l'infection microbienne ou contre les toxines par une série de processus assez mal connus.

L'**état réfractaire,** d'après LE BOURDELLES et SÉDALLIAN, suffit dans bien des cas à enrayer la progression des infections. Lorsque l'organisme est réfractaire naturellement à une infection bactérienne ou à une intoxication, on constate que les éléments bactériens sont incapables de se multiplier activement ou que les cellules ne présentent aucune affinité pour les poisons ou toxines en circulation dans le sang. L'infection existe

cependant mais n'entraîne aucune lésion grave. Il y a, dit-on infection latente ou inapparente. Les individus qui en sont le siège peuvent jouer un rôle très important dans la transmission des germes ; l'étude de ces infections inapparentes est donc d'une très grande importance en hygiène. La cause de l'état réfractaire est encore inconnue ; « tout ce qu'on peut dire, écrivent Le Bourdelles et Sédalljan, c'est que l'état réfractaire est le fait d'un état physico-chimique particulier de nos éléments cellulaires ».

Le développement des Bactéries peut être entravé par des causes diverses, physiques ou chimiques, non spécifiques qui résultent de la vie même de l'hôte. Ainsi le pouvoir coagulant du sang, les propriétés bactéricides naturelles de certains sérums, opposent une barrière efficace à l'envahissement de l'organisme par les Bactéries.

L'immunité proprement dite met en jeu d'autres facteurs qui se manifestent seulement après l'introduction des agents parasitaires dans l'organisme vivant ; les propriétés nouvelles acquises par les liquides organiques, au cours des maladies infectieuses, agissent spécifiquement sur les éléments bactériens qui en sont la cause ou sur leurs toxines. L'action antibactérienne se manifeste soit par destruction totale des éléments bactériens (bactériolyse), soit par agglutination ou précipitation de ces mêmes éléments, soit par sensibilisation de ceux-ci à l'action des cellules phagocytantes (pouvoir opsonisant) ; l'action antitoxique se manifeste soit par neutralisation de la substance toxique, soit par floculation de celle-ci.

La bactériolyse, d'après la théorie de Bordet adoptée par la plupart des bactériologistes, résulte de l'action de deux substances ou anticorps : l'une, non spécifique, qu'on retrouve dans tous les sérums, au moins ceux des Vertébrés : c'est l'alexine ou complément l'autre, spécifique, dont l'apparition dans le sang est consécutive à l'infection : c'est la sensibilisatrice. La première est détruite par chauffage à 55° ; elle disparaît également assez vite du sérum par conservation prolongée. Un sérum d'animal vacciné contre un microbe peut ainsi perdre à la longue ses propriétés bactériolytiques ou antitoxiques ; il les perd également à la suite du chauffage à 55° ; mais il les récupère par simple addition de sérum frais quelle que soit l'origine de ce dernier. C'est pour expliquer ce phénomène que Bordet a imaginé sa théorie dite des deux substances : la sensibilisatrice se fixe sur les éléments bactériens (antigène) qui ont provoqué son apparition dans le sang et les rend sensibles



à l'action lytique de l'alexine. Si par exemple, on fait un mélange de sérum chauffé de Cobaye immunisé contre le choléra et de Vibrions de culture, il ne se produira aucune altération visible des éléments bactériens ; mais si l'on ajoute du sérum frais, on constatera aussitôt une transformation des Vibrions en granules puis leur disparition complète du mélange (phénomène dit de Pfeiffer).

Le pouvoir bactériolytique ne se manifeste pas toujours aussi nettement que dans le phénomène de Pfeiffer ; un grand nombre d'espèces bactériennes résistent en effet à l'action lytique de l'alexine. On peut démontrer cependant d'une manière indirecte que les processus bactériolytiques se déroulent bien comme il a été indiqué plus haut. Supposons par exemple un sérum d'animal immunisé contre le Streptocoque, espèce réfractaire à l'action lytique de l'alexine ; si l'on mélange de l'immun sérum de cet animal avec des Streptocoques de culture et du sérum frais, la sensibilisatrice, puis l'alexine du sérum frais devront se fixer sur les éléments bactériens et disparaître ainsi du mélange. Si d'autre part, on fait un mélange de globules rouges de mouton lavés et de sérum de Lapin immunisé contre les globules rouges, on ne constatera pas d'hémolyse des globules rouges après addition des deux mélanges, comme cela devrait se produire si l'alexine du sérum frais du premier mélange n'avait pas été immobilisée à la suite de la première opération. Telle est la réaction dite de fixation du complément qui est couramment employée dans les laboratoires de diagnostic bactériologique (Méthode de Bordet et Gengou).

L'agglutination des émulsions microbiennes homogènes par les sérums d'animaux immunisés contre ces microbes est un phénomène qui peut être observé assez fréquemment. Le sérum de convalescent de typhoïde agglutine par exemple le Bacille typhique de culture à un taux parfois très bas. L'agglutination détermine la formation de grumeaux plus ou moins volumineux qui tombent rapidement au fond du tube renfermant l'émulsion de Bacilles. La réaction est spécifique, c'est-à-dire que le sérum d'animal immunisé contre une Bactérie déterminée n'agglutine que cette Bactérie. La réaction est utilisée couramment dans les laboratoires pour le diagnostic de certaines maladies infectieuses. On admet que le pouvoir agglutinant des immunsérums est dû à la présence d'une substance ou anticorps élaborée au cours de l'infection : l'agglutinine ; cette substance se fixerait d'abord sur les microbes ; il y aurait ensuite floculation des Bactéries imprégnées d'anticorps.

Le pouvoir opsonique est la propriété que possède le sérum de sensibiliser les Bactéries à l'action phagocytante des cellules. Cette propriété caractérise surtout les immunsérums. On admet généralement qu'elle a pour cause la présence dans le sang d'un anticorps, l'opsonine, qui se fixe électivement sur les Bactéries contre lesquelles l'animal est immunisé. Si par exemple on met en contact des Bactéries avec le sérum d'un animal immunisé contre elles, qu'on lave ensuite à plusieurs reprises les éléments bactériens et qu'on les mette en présence de phagocytes d'animal neuf, on constate qu'ils sont beaucoup plus rapidement phagocytés que des Bactéries n'ayant subi aucun traitement. La recherche de l'index opsonique (rapport entre le pouvoir phagocytaire d'un animal normal et celui d'un sujet vacciné) est une méthode de séro-diagnostic utilisée dans les laboratoires.

Bactériolysines, opsonines, agglutinines sont trop souvent considérées comme des entités définies, alors que rien jusqu'ici ne permet d'affirmer leur existence. Il serait donc plus juste de parler de pouvoir bactériolytique des sérums, pouvoir agglutinant, opsonisant.

Les animaux peuvent être immunisés non seulement contre les microbes, mais aussi contre les toxines, les substances protéiques et albuminoïdes diverses, les cellules, etc. L'immunisation se manifeste par l'acquisition de propriétés sériques nouvelles qui seraient dues à la présence d'anticorps : antitoxines, cytolysines, etc...

On a discuté longuement sur la question de l'unicité ou de la pluralité des anticorps; actuellement, d'après LE BOURDELLES et SÉDALLIAN, on est plutôt en faveur de la première opinion. « La multiplication des anticorps, disent ces auteurs, ne paraît bien être qu'une apparence provoquée par la multiplicité des antigènes ».

## L'IMMUNITÉ CHEZ LES INVERTÉBRÉS

L'immunité est encore très mal connue chez les Invertébrés en général et les Insectes en particulier ; ce fut cependant sur un Invertébré, la Daphnie, que METCHNIKOFF fit ses premières observations d'où naquit la théorie de la phagocytose. Mais les expériences les plus célèbres ont été faites sur les Vertébrés et, dans son histoire comparée de l'immunité dans les maladies infectieuses, il passe très rapidement sur tout le monde des Invertébrés. D'autre part, METCHNIKOFF n'expérimenta sur les Insectes que des microbes parasites d'animaux à tempé-



rature constante, par exemple, la Bactéridie du charbon, le Vibrion du choléra. Cette même critique peut être faite à propos d'un grand nombre de travaux relatifs à l'étude de l'immunité chez les Insectes.

Injectant à des larves d'**Oryctes nasicornis** un peu de culture de Bactéridie charbonneuse, METCHNIKOFF observa que ce Bacille ne se développait pas dans le sang, mais était englobé par les leucocytes. Le sang des larves constitue cependant un bon milieu de culture ; en leur injectant au contraire une très petite quantité de Vibrions cholériques, on provoque à coup sûr leur mort par infection généralisée ; or ces Vibrions « provoquent chez les leucocytes du sang, a constaté METCHNIKOFF, une chimiotaxie négative et poussent sans être gênés dans le plasma sanguin. La larve se transforme bientôt en un vase de culture et la quantité de Vibrions qui s'y développent amènent la mort de l'animal ».

KOWALEWSKY, cité par METCHNIKOFF, a étudié l'action de la Bactéridie du charbon sur les Grillons ; cet auteur a montré que les microbes injectés, comme d'ailleurs beaucoup de substances étrangères, étaient phagocytés très énergiquement par quatre organes spéciaux, situés dans le voisinage du cœur, auxquels il a donné le nom de « rate ». Cependant, les Grillons inoculés (maintenus à la température de 22-23° C) succombèrent généralement à la maladie. L'infection généralisée résulte alors de l'insuffisance de l'englobement des Bactéries par les phagocytes et la possibilité, pour le microbe, de se développer facilement dans le sang.

Par contre, d'après BALBIANI, le Grillon se montre réfractaire vis à vis de grandes quantités de Bacilles appartenant au groupe du **Bacillus subtilis** ; cette immunité est exclusivement due à l'activité phagocytaire des leucocytes et des organes phagocytaires. D'après METCHNIKOFF, les Insectes qui n'ont que peu de leucocytes comme les Mouches, les Papillons, les Hyménoptères, se montreraient peu sensibles à l'infection causée par ces mêmes microbes. La conséquence de toutes ces observations, c'est que la phagocytose seule explique tous les cas d'immunité chez les Insectes. Cette opinion a été soutenue par la presque totalité des auteurs qui ont étudié l'immunité dans les maladies bactériennes des Insectes. Elle a été érigée en doctrine et a eu des adeptes fervents dans le monde des bactériologistes, mais aussi des détracteurs. L'Ecole de BÜCHNER, en particulier, s'est efforcée de réduire la phagocytose à un rôle de second plan, les défenses humorales étant de

beaucoup les plus efficaces. Aujourd'hui, la lutte entre les deux doctrines a perdu beaucoup de son acuité et la plupart des Bactériologistes admettent que la défense est à la fois d'ordre cellulaire et d'ordre humoral.

Etudiant sur un Myriapode, la Scolopendre, l'action du virus charbonneux, Kowalewsky a montré que :

1° Pendant les chaleurs de l'été, les Scolopendres inoculées mouraient dans les vingt-quatre heures qui suivent l'inoculation ; mais qu'une certaine proportion d'entre elles résistaient à l'infection ;

2° Le taux des survivantes était beaucoup plus élevé lorsque les inoculations étaient faites à 17-18° C.

L'auteur a essayé d'immuniser des Scolopendres par la méthode du froid, mais sans résultat précis ; l'inoculation préventive du premier vaccin, contre lequel la résistance des Scolopendres était parfaite, n'a pas augmenté, semble-t-il, la résistance du Myriapode vis à vis du charbon virulent.

L'immunité chez les Scolopendres se manifeste exclusivement, d'après Kowalewsky, par l'action phagocytaire des leucocytes et des cellules des glandes lymphatiques.

Les tentatives de Fredericq pour déterminer la production d'anticorps chez les Invertébrés par injection de protéines étrangères sont restées vaines. « L'apparition d'une réaction de défense vis à vis de la pénétration dans le sang de protéines étrangères reste par conséquent, dit Fredericq, le privilège exclusif des organismes supérieurs des Vertébrés ».

Cependant Cantacuzène a montré que les Invertébrés sont capables d'élaborer des anticorps spécifiques, en particulier des hémolysines, des agglutinines, des cytolysines ; la démonstration en a été faite chez différentes espèces de Crustacés. Dans le rapport qu'il a présenté en 1923, à l'occasion de la célébration du 75e anniversaire de la Société de biologie, Cantacuzène concluait à l'existence de réactions cellulaires et humorales d'immunité chez les Invertébrés, mais pour lui, le facteur le plus général et le plus facile à mettre en évidence est la réaction phagocytaire. « Aussi bien dans l'immunité naturelle que dans l'immunité acquise, affirme-t-il, la résistance de l'organisme est fonction de l'énergie et de la précocité de la phagocytose ».

C'est aussi la conclusion à laquelle aboutit Metalnikov à la suite de toutes ses recherches sur l'immunité chez la Mite des Abeilles (**Gal-**



**leria mellonella**) ; il ne fait aucun doute pour cet auteur que la défense de l'organisme est assurée généralement par destruction intraleucocytaire des microbes (phagocytose) et beaucoup plus rarement par destruction extracellulaire (bactériolyse). Cette défense se manifeste aussi par « isolement des microbes ou des virus à l'intérieur de l'organisme » lorsqu'ils offrent une trop grande résistance à l'action des ferments intracellulaires ; par la production d'abcès externe qui a pour effet d'éliminer les microbes de l'organisme en les isolant de l'intérieur.

Les idées défendues jadis par Metchnikoff sont reprises par Metalnikov qui voit toujours dans les phagocytes des soldats mobilisés en vue de la défense de l'organisme contre les envahisseurs microbiens. « On peut dire que pendant l'immunisation, affirme-t-il, toutes les cellules se mobilisent contre les microbes ou l'antigène donné comme s'il s'agissait pour elles de combattre un véritable ennemi ». Cette conception un peu trop finaliste de l'immunité ne cadre guère, comme on le verra, avec les faits que j'ai mis moi-même en évidence.

L'immunisation aurait pour principal effet de rendre plus énergiques et plus efficaces les réactions cellulaires. « On peut dire, conclut Metalnikov, que toutes les cellules paraissent plus sensibles envers un microbe donné. De ce point de vue, l'immunisation est une mobilisation des diverses cellules et des tissus (particulièrement des tissus réticulo-endothéliaux). C'est cette sensibilité renforcée (hypersensibilité) des cellules qui semble être la cause principale de l'immunisation et de l'immunité acquise ».

L'étude de l'immunité chez la Pyrale du maïs n'a pas modifié l'opinion de Metalnikov. Seul ou en collaboration avec ses élèves, il a cependant mis en évidence un certain nombre de faits qui ne manquent pas d'intérêt ; signalons en particulier l'influence du système nerveux sur la marche des processus immunitaires : d'après les expériences faites sur **Galleria**, il a été constaté que l'ablation des ganglions cérébroïdes, des premier et second ganglions thoraciques, des ganglions abdominaux, est sans grande influence sur l'immunisation des chenilles ; par contre, la destruction du troisième ganglion thoracique diminue rapidement l'immunité naturelle ou acquise des chenilles ; ce ganglion jouerait donc un rôle important dans l'immunité. L'auteur émet l'hypothèse que le système nerveux agit à distance par quelque facteur intermédiaire : hormone, induction ou rayonnement.

La formation de capsules, plasmodes, cellules géantes au cours de certaines infections, constitue autant de phénomènes très curieux qui ont été observés par différents auteurs en dehors de METALNIKOV et de ses élèves.

A ma connaissance, GLASER est le premier auteur qui ait admis la possibilité d'une immunité antimicrobienne humorale chez les Insectes. Etudiant la pathogénéité du **Bacillus poncei** pour un Acridien, **Melanoplus femur-rubrum,** GLASER a observé qu'une certaine proportion des individus inoculés résistaient à l'infection. En prélevant une goutte de sang de ces Insectes en état d'immunité et ajoutant une goutte de culture en bouillon du **B. poncei,** il a constaté que les Bacilles perdaient rapidement leur motilité, s'agglutinaient et perdaient leur vitalité. Il existerait donc, dans le sang des Insectes immunisés, des substances antagonistes, autrement dit, bactéricides ; ces mêmes substances, d'après GLASER, peuvent exister aussi dans le sang des Insectes non encore en état d'immunité, mais leur présence n'est pas constante.

Avant d'entrer dans le détail de mes recherches personnelles sur l'immunité chez les Insectes, il est utile d'indiquer dans quel esprit elles ont été poursuivies.

Elevé à l'Ecole de METCHNIKOFF et imbu de ses idées sur le rôle de la phagocytose dans l'immunité, je m'étais proposé tout d'abord d'étudier le mécanisme de cette réaction et de préciser l'importance du rôle qu'elle joue chez les Insectes. Quelques-uns des microbes entomophytes que j'avais isolés se prêtaient remarquablement bien à l'étude de la phagocytose en raison de leur affinité particulière pour les éléments phagocytants du sang ; c'est avec ces microbes que j'ai poursuivi tout d'abord mes expériences et que j'ai précisé les conditions générales et la vitesse d'englobement des éléments bactériens. Or les espèces expérimentées étaient toutes incapables de déclencher des réactions humorales dans le sang des Insectes. C'est fortuitement que j'ai découvert que toutes les espèces microbiennes ne se comportaient pas, dans le sang des Insectes, comme les premières étudiées et que la phagocytose n'était pas la seule réaction importante d'immunité. J'ai donc repris toute la partie expérimentale de mon travail sur l'immunité et les conclusions auxquelles je suis parvenu infirment catégoriquement celles qui découlaient de mes premières expériences. Il m'est apparu que l'ensemble des réactions déchaînées dans l'organisme des Insectes en état



d'infection constituait un tableau biologique d'une très grande complexité où les réactions cellulaires sont loin d'occuper toujours la première place ; ce tableau varie non seulement suivant les espèces d'Insectes et les microbes inoculés, mais aussi, peut-on dire, d'un individu à un autre. Les différentes réactions qui constituent un même tableau biologique sont étroitement dépendantes les unes des autres ; il serait donc rationnel de les étudier ensemble. Pour la clarté de l'exposition, j'étudierai séparément les réactions de type différent.

---

CHAPITRE XV

# Les réactions cellulaires d'immunité.

La phagocytose est la plus connue de toutes ces réactions où les cellules sanguines paraissent jouer le rôle de premier plan.

Dans son rapport sur « le Problème de l'immunité chez les Invertébrés », CANTACUZÈNE signale l'existence d'autres processus réactionnels cellulaires encore très mal connus : les « réactions de contact » dont le principe repose sur une observation de MOUTON relative à la préhension de Bacilles par une Amibe.

Avant d'étudier ces différents types de réactions cellulaires qui ont pour siège le milieu sanguin, il est nécessaire de bien connaître la cytologie de ce milieu.

Article 1.

## ETUDE CYTOLOGIQUE DU SANG DES INSECTES

Le premier travail important sur la cytologie du sang des Insectes date de 1895 (CUÉNOT). Les recherches entreprises avant cette époque n'avaient donné que peu de résultats en raison des moyens d'investigation sommaires dont on disposait. Le simple examen à l'état frais ne permet pas, en effet, de distinguer facilement les différents types

de cellules et d'en préciser les caractères structuraux ou les propriétés biologiques.

Cuénot, dans son travail de 1896 sur les Orthoptères, distinguait plusieurs types de cellules :

1° « Des amibocytes de petite taille à protoplasme peu abondant, à beau noyau présentant indubitablement des caractères de jeunesse. Ils se multiplient par mitose ; ce sont des « éléments purement germinatifs » ;

2° Des amibocytes de grande taille à protoplasme abondant, homogène, à beau noyau. Ces cellules sont seules capables de phagocyter ; on n'observe jamais de mitose, mais de simples divisions directes ;

3° Des amibocytes semblables aux précédents ou à noyau plus petit, dont le protoplasme renferme de fines granulations acidophiles qui finissent par remplir complètement le protoplasme ;

4° Le type précédent dégénéré, à volume diminué, dont les grains disparaissent ou se fondent dans le protoplasme généralement très colorable. Le noyau peut tomber en chromatolyse en se résolvant en petites boules séparées, très colorables.

« En somme, dit Cuénot, les globules comprennent des formes ascendantes (cellules germinatives et phagocytes), un état adulte (amibocytes à grains acidophiles) et des formes descendantes aboutissant à la disparition totale ». Les différents types de cellules ne représenteraient donc que des stades distincts de l'évolution d'un type initial, la cellule germinative. Cette conception a été celle de la plupart des auteurs qui ont étudié la question de la cytologie du sang à la suite de Cuénot. Dans ses recherches plus récentes qui ont fait l'objet d'un petit mémoire publié en 1897, cet auteur n'apporte aucun fait nouveau digne d'être noté ; il rejette définitivement, cependant, la conception de glandes globuligènes génératrices d'éléments du sang (primitivement, il admettait que les cellules péricardiales jouaient ce rôle).

L'important travail de Kollmann sur « les leucocytes et le tissu lymphoïde des Invertébrés » confirme, d'une manière générale, la thèse de Cuénot ; mais pour Kollmann, les noyaux doubles que l'on observe dans les leucocytes non granulés à cytoplasme abondant ne sont pas le résultat d'une division directe, comme le pensait Cuénot : il y aurait là, plutôt, une véritable fragmentation nucléaire ; cette fragmentation en deux ou même en plusieurs masses est d'ailleurs un phénomène très général qui marque le terme de l'évolution du noyau des leucocytes.



Mes observations personnelles ne m'ont pas permis de confirmer cette opinion de l'auteur ; la fragmentation du noyau ou karyolyse est un phénomène accidentel dont les causes peuvent être multiples ; dans le sang normal, de tels noyaux fragmentés apparaissent exceptionnellement.

En ce qui concerne les œnocytes, Kollmann les considère comme des éléments de taille toujours supérieure à celle des autres leucocytes, à protoplasme très acidophile, se reproduisant par division directe. Cet auteur, en considérant les œnocytes comme des éléments du sang, a commis la même erreur que j'ai commise moi-même dans une note à l'Académie relative à la cytologie du sang des chenilles de Macrolépidoptères. Les œnocytes, signalés pour la première fois par Wielowiesky, sont en effet des cellules fixes d'un type très particulier ; chez les larves de **Chironomus** et de **Corethra** où elles ont tout d'abord été observées, elles se présentent comme de grosses cellules colorées en rouge vineux, unies par des prolongements aux cordons graisseux externes. Les œnocytes se rencontrent chez presque tous les Insectes, au moins à l'état larvaire ; ils sont rarement libres et ne peuvent être considérés comme des éléments normaux du sang.

Contrairement à Cuénot, Kollmann admet l'existence d'organes lymphoïdes chez certains Orthoptères et peut-être aussi chez les chenilles de Lépidoptères.

Metalnikov, dans ses « Recherches expérimentales sur les chenilles de **Galleria mellonella** », a donné un tableau détaillé des différents types de cellules existant normalement dans le sang de ces chenilles. Il distingue :

1° De petits leucocytes à noyau occupant presque tout le corps de la cellule ; ces éléments sont souvent le siège de phénomènes de caryocinèse ;

2° Des leucocytes plus grands que les précédents et seuls capables de phagocyter les substances étrangères du sang ; selon toute probabilité, ces cellules représentent des stades plus anciens que les précédents ;

3° De grands leucocytes au protoplasme granuleux et vacuolaire, à petit noyau, mais en proportion moindre, dans le sang, que les deux autres espèces de leucocytes ;

4° De grandes cellules assez rares dans le sang, à protoplasme parfaitement homogène et à grand noyau.

Les éléments doués de pouvoir phagocytaire peuvent, d'après l'auteur, s'agglutiner les uns aux autres et former de véritables plasmodes. Ces plasmodes ont été observés aussi par d'autres auteurs, en particulier par KOWALEWSKY, CUÉNOT, SOUSLOV. METALNIKOV en a vu se former d'énormes chez les chenilles injectées de Bacilles tuberculeux ; il explique leur formation de la manière suivante : « en injectant des grains de carmin, on observe que ces grains se collent à la surface des phagocytes après quelques minutes ; la substance injectée fait donc excréter, aux phagocytes, un certain liquide visqueux grâce auquel ils collent et retiennent à leur surface les corps étrangers ». Les plasmodes ainsi formés détruiraient mieux les microbes injectés, d'où leur rôle dans l'immunité. L'hypothèse est séduisante ; mais elle ne peut s'appliquer qu'à un nombre de cas assez restreint.

Dans l'ouvrage qu'il a consacré à l'infection microbienne et l'immunité chez la Mite des Abeilles, METALNIKOV distingue six types de cellules :

1° Eléments à gros noyau et mince couche protoplasmique ressemblant aux lymphocytes du sang de l'Homme ;

2° Grands éléments à gros noyau et à protoplasme fortement colorable ;

3° Grands éléments arrondis à couche protoplasmique assez épaisse, à noyau plus petit que celui des cellules précédentes. Ce sont de vrais leucocytes ou phagocytes ;

4° Œnocytes. Grandes cellules à protoplasme homogène. (METALNIKOV commet la même erreur que j'ai relevée plus haut) ;

5° Cellules sphéruleuses. Ce sont de grands éléments remplis de sphérules colorables en bleu-violet foncé par le panchrome. D'après l'auteur, elles joueraient un rôle important dans l'immunité ;

6° Cellules sphéruleuses vides.

Les travaux de HOLLANDE sur le sang des Insectes à hémorrhée (1909-1911) sont importants, moins par les faits nouveaux mis en lumière que par l'ordre et la précision qu'ils apportent dans nos connaissances sur la cytologie du sang des Insectes. L'auteur classe et nomme les éléments cellulaires ; il distingue ainsi dans le sang des chenilles :

1° Les **proleucocytes** qui représentent les cellules à gros noyau et mince couche protoplasmique des auteurs déjà cités (cellules du 2e type de METALNIKOV) ; leur dimension varie de 6 à 9 μ ;



2° Les **phagocytes** qui proviennent directement des précédents ; leur forme est généralement celle d'un fuseau plus ou moins étiré ; l'auteur n'a pas observé de division indirecte ;

3° Les **leucocytes granuleux** rencontrés seulement dans le sang des chenilles d'Hyponomeute ;

4° Les **œnocytoïdes** à noyau petit, à protoplasme très homogène, très brillant **in vivo**. Ils correspondent, d'après l'auteur, aux éléments décrits par METALNIKOV sous le numéro 4 ;

5° Les **cellules à sphérules** qui n'existent pas de façon constante dans le sang des chenilles ; HOLLANDE les considère comme de petites sphères renfermant huit à dix grosses sphérules périphériques, incolores et réfringentes ; souvent ces sphérules alternent plus ou moins régulièrement avec de petits granules à réaction acidophile.

Dans une thèse soutenue en 1918 et consacrée à l'étude des métamorphoses d'un Lépidoptère (**Hyponomeuta padella**, L.), Mme HUFNAGEL a décrit avec quelques détails les éléments normaux du sang des chenilles. Outre les proleucocytes de HOLLANDE, elle distingue : les **leucocytes jeunes** qui ressemblent aux phagocytes de cet auteur, mais leur rôle paraît très restreint dans l'englobement des débris histolysés ; les **leucocytes âgés** ou **phagocytes** plus ou moins sphériques, ovalaires ou polygonaux au moment du repos. Ils sont amiboïdes ou présentent un bout allongé lorsqu'ils se déplacent. D'après les figures de l'auteur, le noyau de ces éléments est nettement plus petit que celui des leucocytes jeunes ; « les granulations chromatiques sont très espacées, un nucléole peut exister ou non. Le suc nucléaire est très clair. Le cytoplasme éosinophile contient quelques vacuoles. Il renferme quelquefois de minuscules granulations éosinophiles poussiéreuses. Ces cellules présentent un stade plus avancé des jeunes leucocytes à cytoplasme chromatophile. » Les **cellules à inclusions grasses**, non mentionnées par HOLLANDE, seraient fréquentes au moment de la nymphose, mais manqueraient chez l'adulte ; on les trouverait aussi chez les très jeunes chenilles. « Il est probable, dit l'auteur, que les éléments en question sont des leucocytes modifiés et que cette modification a eu surtout lieu au moment de la métamorphose ; elle consiste en ce que certains leucocytes se chargent abondamment de gouttelettes grasses qui se réunissent en une seule et repoussent le noyau à la périphérie ». Ces éléments correspondraient aux leucocytes granuleux modifiés de HOLLANDE. Les

**leucocytes à granules** qui représentent le 5[e] type décrit par Mme HUFNAGEL sont assimilables, d'après les caractères morphologiques donnés, aux œnocytoïdes de POYARKOFF et de HOLLANDE.

Il nous semble se dégager, de cette étude historique sommaire, une première conclusion : c'est que les auteurs sont à peu près d'accord pour considérer la plupart des types cellulaires du sang d'Insectes comme des stades de développement d'un élément initial caractérisé par un noyau et une mince couche cytoplasmique (proleucocytes de HOLLANDE). Il n'apparaît pas cependant que cette opinion ait été appuyée de preuves suffisantes. D'autre part, les descriptions des auteurs ne concordent pas, bien que les Insectes étudiés soient assez voisins les uns des autres.

Mes études propres ont été faites sur différentes espèces de chenilles de Macrolépidoptères et sur quelques larves de Coléoptères et d'Hyménoptères. Chez les chenilles on rencontre surtout deux espèces de cellules ; les unes à petit noyau formé de grains de chromatine assez bien séparés les uns des autres, à cytoplasme dense se colorant en bleu pâle par le Giemsa (Fig. 107, **1-12**) ; les autres, à noyau nettement plus volumineux, à cytoplasme dense se colorant en bleu foncé par le Giemsa (Fig. 107, **13-23**). Dans le cytoplasme des premières, on rencontre souvent des inclusions constituant vraisemblablement des substances de réserve ; souvent aussi on constate la présence de petites granulations éosinophiles dispersées sans ordre au milieu du cytoplasme (sang d'**E. chrysorrhœa** principalement). Ces éléments sont les seuls qui participent à la réaction de phagocytose. Au point de vue biologique, il semble que leur propriété fondamentale soit la participation active aux échanges et leur pénétration facile par les substances normales dissoutes dans le plasma ou les éléments anormaux, microbiens ou autres. J'ai donné le nom de **micronucléocyte** à ces éléments et celui de **macronucléocyte** aux cellules à gros noyau ne participant pas à la réaction de phagocytose et ne produisant pas de plastes albuminoïdes pendant la mue ou la nymphose ; examinés à l'état frais, les macronucléocytes se présentent généralement sous la forme arrondie ; cependant, si on les examine aussitôt après le prélèvement de sang, ils peuvent affecter la forme de fuseau plus ou moins allongé ; cette forme ne persiste pas longtemps : très rapidement, les pointes du fuseau se rétractent et l'élément prend la forme arrondie. Les caractères morphologiques des macronucléocytes coïncident assez exactement avec ceux des phagocytes

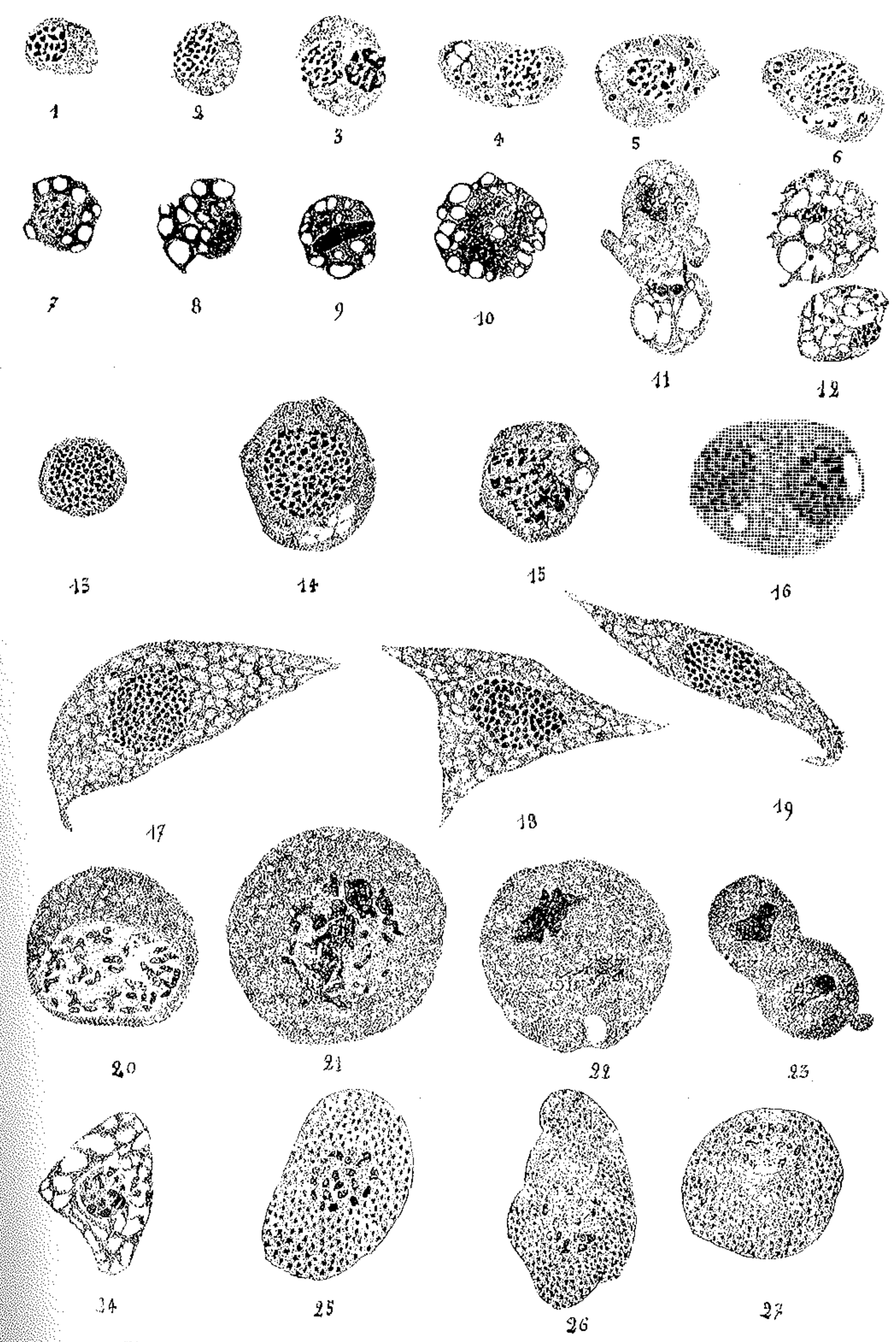


Fig. 107. — Eléments du sang des chenilles d'Euproctis chrysorrhoea.

de HOLLANDE et des jeunes leucocytes de HUFNAGEL. Suivant les espèces de chenilles, les dimensions des macronucléocytes et des micronucléocytes varient dans des limites assez étendues ; leurs caractères morphologiques restent cependant assez constants.

Outre ces éléments, on rencontre normalement des cellules à noyau semblable à celui des micronucléocytes mais dont le cytoplasme renferme des sphérules régulièrement arrondies, fortement réfringentes, et de nature non déterminée : ce sont les cellules à sphérules de METALNIKOV et de HOLLANDE ; on peut les considérer comme des micronucléocytes modifiés ; ils ne participent pas à la réaction de phagocytose ; leur rôle, dans l'économie, n'est pas connu ; il est possible que les sphérules soient constituées par des substances de réserve ; dans ce cas, la cellule sphéruleuse serait l'équivalent de la cellule adipeuse.

Les **œnocytoïdes** (Fig. 107, **24-27**), dont les caractères morphologiques ont été déjà suffisamment bien décrits par les auteurs précités pour qu'il ne soit pas nécessaire d'insister à nouveau sur ce point, existent normalement dans le sang de toutes les chenilles, mais leur proportion est beaucoup plus faible que celle des autres éléments (moins de 5 % en général). A l'état frais, ils se distinguent nettement de ceux-ci par leur forme régulièrement arrondie, par leurs contours bien accusés et par la réfringence plus grande de la couche cytoplasmique. On ne sait rien de leur rôle dans l'économie.

En résumé, on peut distinguer, dans le sang des chenilles, quatre types principaux de cellules : les micronucléocytes, les macronucléocytes, les micronucléocytes à sphérules et les œnocytoïdes. Les éléments à gros noyau et mince couche protoplasmique de METALNIKOV ne sont que des macronucléocytes jeunes et il n'y a pas lieu d'en faire une catégorie spéciale. Toutes ces cellules sont caractérisées par leur forme très aplatie. Elles sont toutes capables de se diviser par mitose, même les œnocytoïdes. Les cellules-filles qui résultent de la division caryocinétique présentent les caractères de la cellule-mère ; autrement dit, les micronucléocytes donnent naissance à des micronucléocytes ; les macronucléocytes à des macronucléocytes, etc... J'ai représenté dans la figure 107 les différentes phases du processus caryocinétique ; il est donc inutile d'en faire l'objet d'une longue description. On peut faire remarquer seulement que les fuseaux achromatiques et les centrosomes font complètement défaut dans les cellules en voie de division ; la plaque équatoriale est ici représentée par une simple bande fortement chro-



matophile. Quand les deux cellules-filles se séparent, on observe pendant un certain temps, une traînée chromatique qui réunit les deux nouvelles cellules. La proportion des éléments en voie de division dans le sang normal ne dépasse guère 3 à 4 p. 1000 du nombre total des cellules. L'étude **in vivo** de la caryocinèse a été rendue possible par l'injection de nucléinate de soude dans la cavité générale avant la prise de sang ; comme l'a montré DOYON, ce corps a la propriété de rendre incoagulable le sang. Certaines des phases de la division sont difficiles ou même impossibles à mettre en évidence, soit que l'opacité de la

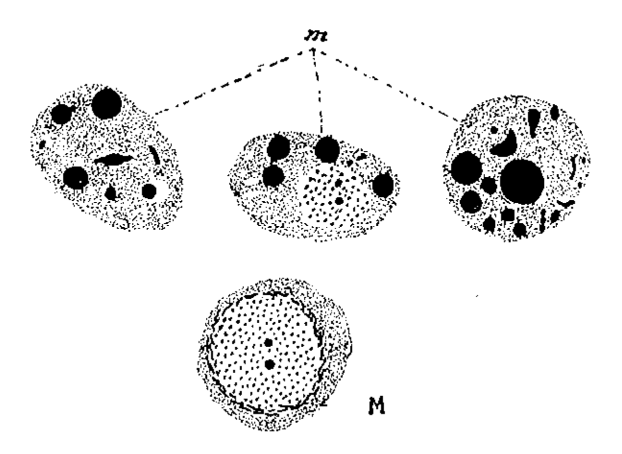



Fig. 108. — Éléments du sang de Ver à soie pendant la mue ; m, micronucléocytes avec plastes albuminoïdes d'origine mitochondriale ; M, macronucléocyte avec chondriosomes concentrés autour du noyau. Fixation au formol salé ; coloration de Kull.

substance cytoplasmique devienne plus grande, soit que l'indice de réfraction se rapproche de celui de la chromatine. Il en est ainsi pendant la prophase, au cours de laquelle je n'ai rien pu observer dans l'intérieur de la cellule. Au contraire, pendant la métaphase, la substance chromosomiale devient très apparente ; les cellules sont comparables à des disques d'épaisseur minime ; la plaque équatoriale apparaît comme une bande médiane très réfringente dans laquelle on ne distingue aucun chromosome. La division de la bande a lieu par simple clivage ; les deux bandes s'éloignent l'une de l'autre, puis la cellule s'allonge suivant l'axe des pôles et les deux bandes se contractent. La substance chromosomiale s'éteint ensuite et il devient impossible de suivre les dernières phases de la division quel que soit l'éclairage em-

ployé (fond noir ou éclairage latéral). On observe seulement la plasmodiérèse qui suit de près la division nucléaire. Les deux cellules-filles une fois séparées, leurs noyaux deviennent de nouveau visibles ; on constate alors que la structure en est redevenue normale.

A l'état vivant, pendant la mue, les micronucléocytes apparaissent plus ou moins remplis d'inclusions réfringentes ; les autres éléments du sang en sont à peu près complètement dépourvus. Avec R. Noël, j'ai montré que ces inclusions, qui jouent le rôle de substances de réserves, sont d'origine mitochondriale, pour une grande partie tout au moins (Fig. 108).

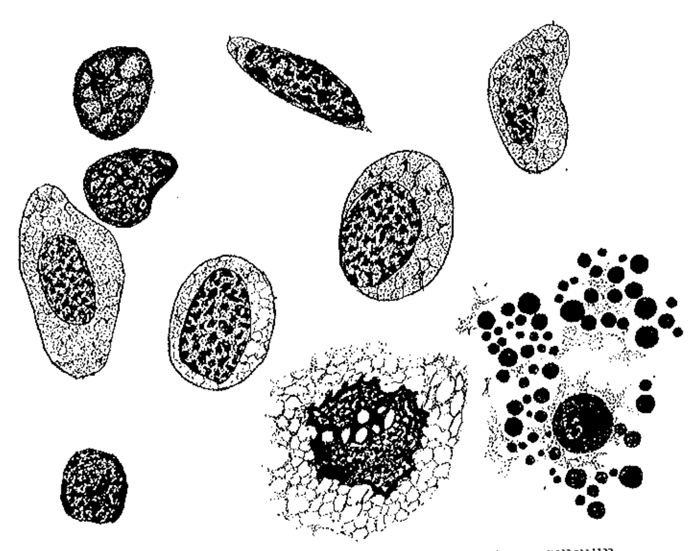


Fig. 109. — Eléments du sang du Hanneton commun.

La cytologie du sang de Hanneton ou de sa larve diffère très sensiblement de celle du sang de chenille. J'ai représenté dans la figure 109 les différents types de cellules rencontrés dans le sang normal du Hanneton : on distingue d'abord des cellules fusiformes ou arrondies, à noyau assez volumineux formé de grains de chromatine bien séparés les uns des autres, à couche cytoplasmique plus ou moins basophile ; ces éléments possèdent, à un faible degré il est vrai, le pouvoir d'englober les microbes ; puis des cellules à petit noyau formé de chromatine très condensée, à couche cytoplasmique remplie de grosses granulations très fortement chromatophiles ; nous ne connaissons rien du



rôle physiologique de ces éléments. Ces deux types de cellules paraissent les plus abondants dans le sang normal. On rencontre en outre des éléments réduits à leur noyau et d'autres dont le noyau est volumineux mais plus ou moins vacuolaire.

Dans le sang des larves d'Elatérides, on observe deux types principaux de cellules : les unes à petit noyau (Fig. 110, **a**) formé de chromatine plus ou moins condensée, inégalement répartie dans l'aire nu-

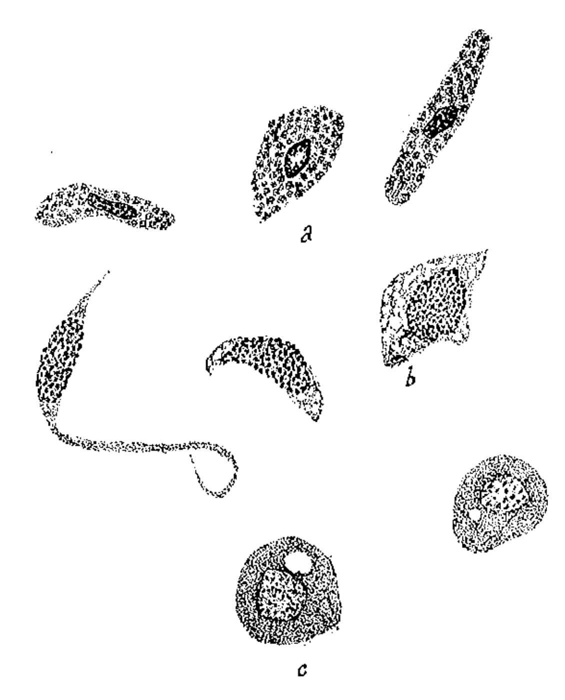



Fig. 110. — Eléments du sang d'une larve d'Elatéride.

cléaire (la périphérie est généralement plus intensément colorée que la partie centrale) ; la couche cytoplasmique affecte une forme généralement allongée ; elle n'est pas homogène mais paraît formée de petites masses arrondies qui se colorent beaucoup moins intensément que les granulations des éléments correspondants du sang de Hanneton. Les autres cellules sont de forme arrondie ou en fuseau (**b**) ; elles possèdent un gros noyau formé de grains de chromatine bien isolés les uns des autres. On rencontre enfin, mais en proportion très faible, des cellules

telles que **c** dont le noyau est intermédiaire entre celui des deux autres éléments ; la couche cytoplasmique se colore plus intensément que celle des éléments à gros noyau et présente une structure plus homogène.

Les différents types de cellules qu'on rencontre dans le sang des larves de **Neurotoma nemoralis**, L. (Hyménoptère) présentent de grandes analogies avec ceux des chenilles (Fig. 111) ) ; les éléments tels que **a** sont les homologues des macronucléocytes ; la couche cytoplasmique est très mince dans les cellules qui paraissent les plus jeunes ($\mathbf{a_1}$) ;

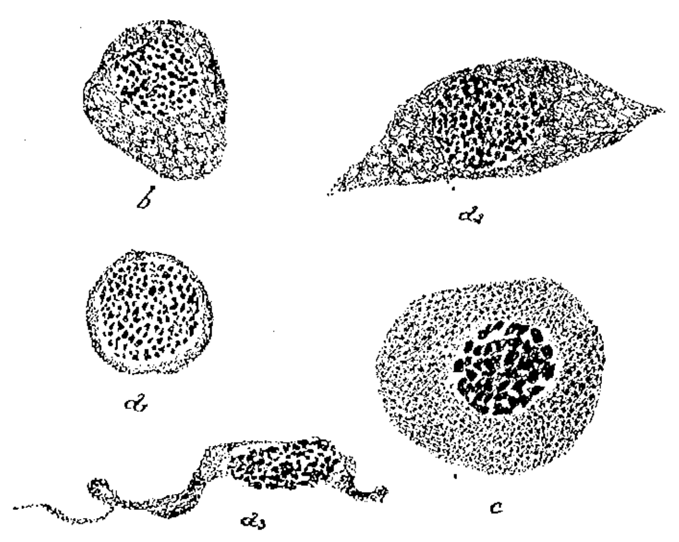


Fig. 111. — Eléments du sang d'une larve de **Neurotoma nemoralis.**

comme dans le sang des chenilles, les macronucléocytes prennent le plus souvent la forme de fuseau ($\mathbf{a_2}$ et $\mathbf{a_3}$) ; les micronucléocytes (**b**) sont les seuls éléments phagocytants ; ils ne prennent jamais la forme de fuseau et leur cytoplasme est plus clair que celui des macronucléocytes. On trouve enfin, en faible proportion, des éléments tels que **c** que l'on peut considérer comme les homologues des œnocytoïdes ; leur cytoplasme est granuleux, mais leur noyau est sensiblement plus volumineux que celui de ces cellules.

La proportion relative des différentes catégories d'éléments du sang est assez constante pour une même espèce et même pour les espèces d'une même famille. Quant au nombre des éléments par millimètre



cube, il varie considérablement d'une espèce à l'autre. Ainsi, d'après les recherches d'un élève de Hollande, M. Aghar, ce nombre varierait de 2.500 à 12.000 chez les chenilles.

Article 2.

## LA PHAGOCYTOSE

### MÉCANISME DE LA PHAGOCYTOSE CHEZ LES VERTÉBRÉS

Levaditi et Muttermilch, étudiant le mécanisme de la phagocytose du Trypanosome de Nagana par les globules blancs du sang de Cobaye, ont montré que ce phénomène comportait les phases suivantes :

1° Attachement de l'objet phagocytaire sur le leucocyte ;

2° Englobement proprement dit et destruction du Trypanosome.

La première phase de la réaction serait d'ordre physico-chimique et pourrait se comparer par exemple au phénomène de l'agglutination ; elle aurait lieu en dehors de toute activité vitale du phagocyte. Néanmoins le phénomène de l'attachement peut être considéré comme spécifique. L'attachement ne résulte pas d'une attraction du leucocyte par le Trypanosome sensibilisé, mais « plutôt de la rencontre fortuite du phagocyte et du Trypanosome ».

La deuxième phase de la phagocytose est un phénomène essentiellement vital.

Par le moyen du cinématographe, Commandon a pu montrer que les leucocytes étaient effectivement attirés par les grains d'amidon, qu'ils poussaient des pseudopodes dans leur direction et se déplaçaient assez rapidement vers eux ; les grains étaient ensuite englobés par le moyen des prolongements protoplasmiques.

Les conclusions de Levaditi et Muttermilch et celles de Commandon diffèrent notablement les unes des autres ; on ne peut dire cependant que les unes ou les autres ne sont pas conformes à la vérité car elles se rapportent à des objets de nature très différente.

## ÉTUDE DU MÉCANISME DE LA PHAGOCYTOSE CHEZ LES INSECTES

De toutes les Bactéries entomophytes que j'ai isolées jusqu'à ce jour, c'est le **Bacterium liparis** qui convient le mieux pour l'étude des processus phagocytaires. Si l'on inocule dans la cavité générale d'une chenille d'**E. chrysorrhœa** une émulsion concentrée de Bacilles, on observe les phénomènes suivants :

1° D'abord une hypoleucocytose très intense aussitôt après l'inoculation ; ce phénomène n'est pas particulier au **B. liparis**, mais se produit toutes les fois qu'on inocule dans la cavité générale une émulsion microbienne quelconque ; même la simple injection d'eau physiologique suffit pour déterminer l'hypoleucocytose. Le chimiotactisme négatif dont semblent faire preuve les éléments sanguins vis à vis des microbes inoculés n'est, en réalité, qu'une simple réaction d'ordre physique ou physico-chimique. Le phénomène est d'ailleurs très général : on l'observe chez les Vertébrés comme chez les Invertébrés. Peu après l'inoculation, l'équilibre se rétablit entre le plasma sanguin et ses éléments cellulaires, mais ce retour à l'état d'équilibre s'explique suffisamment par l'équilibre physico-chimique entre le sang et le liquide injecté sans qu'il soit nécessaire de faire intervenir une propriété vitale des phagocytes. Le fait vulgaire suivant confirme cette manière de voir : lorsqu'on fait une émulsion microbienne en délayant une parcelle de culture sur milieu solide dans une goutte d'eau physiologique, on constate, dès qu'on approche de l'eau la masse microbienne, un mouvement correspondant du liquide en dehors comme si les Bactéries chassaient effectivement l'eau.

Bordet a donné, de l'hypoleucocytose observée chez les Vertébrés, l'explication suivante : « Les inoculations intravasculaires déterminent une hypoleucocytose ou leucopénie qui affecte tout particulièrement les polynucléaires ; parfois en quelques instants, ceux-ci disparaissent presque complètement du sang. Chose remarquable, bien que l'injection de particules et notamment de microbes soit particulièrement apte à provoquer cette baisse considérable de la teneur du sang en leucocytes, l'introduction de liquides limpides : bouillon, peptone et même solution physiologique de chlorure de sodium, produit des effets analogues, bien que, d'habitude, beaucoup moins marqués. Il s'agit d'une sorte de choc dû à l'altération de la composition du liquide circulant et, sans doute, à un trouble de l'équilibre colloïdal. »



Metalnikov, pour expliquer l'hypoleucocytose chez les Insectes, a exprimé une opinion toute différente : après avoir constaté que l'inoculation de microbes virulents dans la cavité générale des chenilles de **Galleria mellonella** détermine une diminution considérable du nombre des leucocytes, il émet l'hypothèse que cette diminution doit avoir pour cause l'action de substances toxiques sur le système phagocytaire. Mais

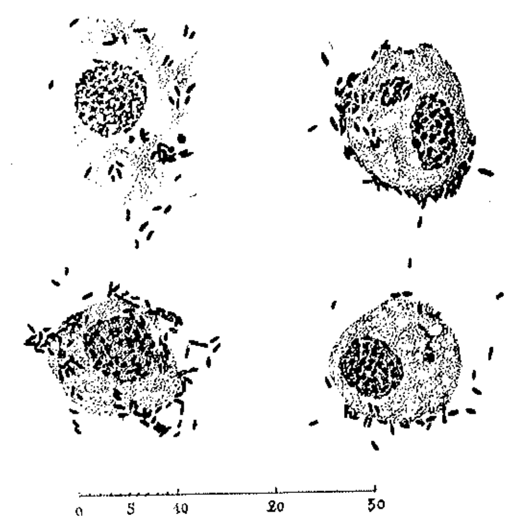



Fig. 112. — Micronucléocytes de chenille d'E. **chrysorrhœa** 40 minutes après injection d'une émulsion chauffée de **B. liparis** dans la cavité générale.

les phagocytes s'habituant rapidement au poison, le sang redevient peu à peu normal. Cette théorie n'est guère défendable, d'après ce qu'on sait de l'action de l'eau physiologique ou celle d'autres liquides non toxiques.

2° Quelques minutes après l'inoculation de l'émulsion microbienne, on observe qu'une certaine proportion de Bacilles sont déjà dans l'intérieur du cytoplasme des micronucléocytes et que beaucoup d'autres sont accolés à la surface de ces éléments (Fig. 112). Suivant quel processus se fait l'englobement des Bacilles ? Les partisans de la théorie cellulaire de l'immunité, Metalnikov en particulier, admettent que les éléments cellulaires sont doués de sensibilité tactile particulière qui

se manifeste par un déplacement dans la direction du microbe ou par l'éloignement dans une direction opposée. Ce déplacement est rendu possible par la formation de pseudopodes analogues à ceux de l'Amibe ; les pseudopodes serviraient d'autre part à l'englobement des microbes ou des particules étrangères susceptibles d'être phagocytés. Le sens du tactisme des éléments phagocytants n'est pas immuable pour une même espèce ; il peut même changer complètement et, de négatif, devenir positif, ainsi qu'on l'observe après une première inoculation de microbes morts ou de virulence moyenne.

Cette théorie, en ce qui concerne plus particulièrement les Insectes, ne repose guère que sur des analogies ; METALNIKOV qui la défend, n'a jamais donné de preuves décisives du rôle actif des leucocytes dans le processus phagocytaire et j'entends par rôle actif, celui qui consiste, pour le leucocyte, en déplacement et préhension des microbes introduits dans l'organisme. Mes observations propres et celles d'autres auteurs, GLASER en particulier, tendraient plutôt à nier ce rôle actif des phagocytes. Si l'on observe en goutte pendante du sang de chenille tenant en suspension des éléments microbiens provenant d'une culture de **B. liparis**, il est impossible de déceler le moindre mouvement amiboïde des micronucléocytes ; et cependant, **B. liparis** est une Bactérie très phagocytable. GLASER, en étudiant une culture **in-vitro** d'éléments cellulaires du sang de **Melanoplus atlanis** Ril., a constaté, au cours d'une observation poursuivie pendant plus de deux semaines, que les différentes catégories de cellules restaient absolument passives. De même, en observant dans les mêmes conditions que précédemment, un mélange de sang de **Melanoplus** et de **C. acridiorum**, il a constaté la complète passivité des éléments phagocytants vis à vis du Coccobacille. Les microbes qui pénètrent dans ces éléments semblent forer la couche cytoplasmique, mais ils ne sont jamais englobés par des pseudopodes. GLASER conclut de ses observations que, dans le mélange cellules-Bactéries, ce ne sont pas les cellules qui sont les véritables agresseurs, mais bien plutôt les microbes. C'est aussi la conclusion qui se dégage de la plupart de mes observations.

Lorsqu'on injecte des microbes dans la cavité générale des Insectes, on réalise un mélange d'abord très hétérogène mais qui s'équilibre assez rapidement ; microbes et cellules sanguines sont alors en suspension homogène dans le plasma. En admettant que les cellules phagocytantes soient douées de propriétés tactiles, elles seraient sollicitées de tous les



côtés à la fois et la résultante de toutes ces forces serait théoriquement nulle ; le déplacement ne pourrait avoir lieu dans un sens ou dans un autre. Dans le cas du **B. liparis** et de beaucoup d'autres espèces, il est indéniable qu'une affinité très marquée existe entre les microbes et les cellules puisque, **in vivo** tout au moins, on assiste à une élimination rapide des Bacilles du sang par phagocytose. Cette affinité ne peut se manifester que par un déplacement des microbes vers les éléments phagocytants et non par un déplacement des cellules vers les microbes ; l'attraction des cellules ne se manifeste toutefois que dans un très faible rayon, de l'ordre de grandeur du microbe tout au plus. **In vitro** même, on ne peut constater l'existence d'un tel déplacement. **In vivo**, les éléments cellulaires participent au mouvement général de circulation du sang et se déplacent suivant les courants ordinaires, ce qu'on peut très facilement constater sous le microscope ; ce déplacement passif, véritable brassage mécanique, favorise dans une certaine mesure l'élimination des microbes ; mais la cause initiale de la phagocytose reste en dehors de ces mouvements de masse ; comme beaucoup d'auteurs l'admettent, elle est d'ordre physico-chimique et s'explique vraisemblablement par la seule intervention des forces dites capillaires.

3° Les microbes étant collés à la surface de l'élément phagocytant, leur pénétration dans le cytoplasme s'effectue sans l'intervention de

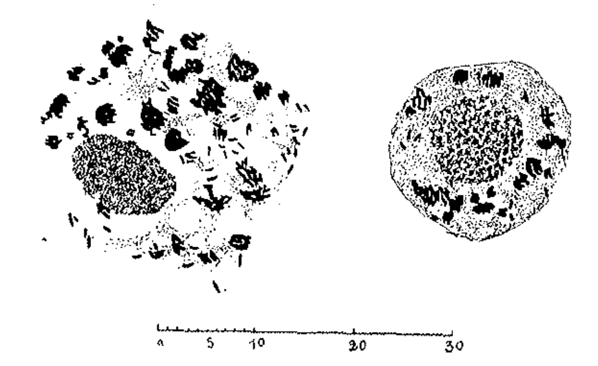



Fig. 113. — Micronucléocytes de chenille d'E. **chrysorrhœa** 5 heures après injection d'une émulsion chauffée de **B. liparis** dans la cavité générale.

prolongements pseudopodiques ; le processus intime de cette pénétration nous échappe ; peut-être les microbes, mouillés par la substance cytoplasmique, sont-ils entraînés dans l'intérieur avec cette substance

elle-même ; on sait en effet que le cytoplasme des cellules ordinaires est animé de mouvements incessants qui se manifestent par un déplacement de cette substance suivant des courants déterminés. La pénétration dans la cellule est certainement favorisée par l'absence d'une

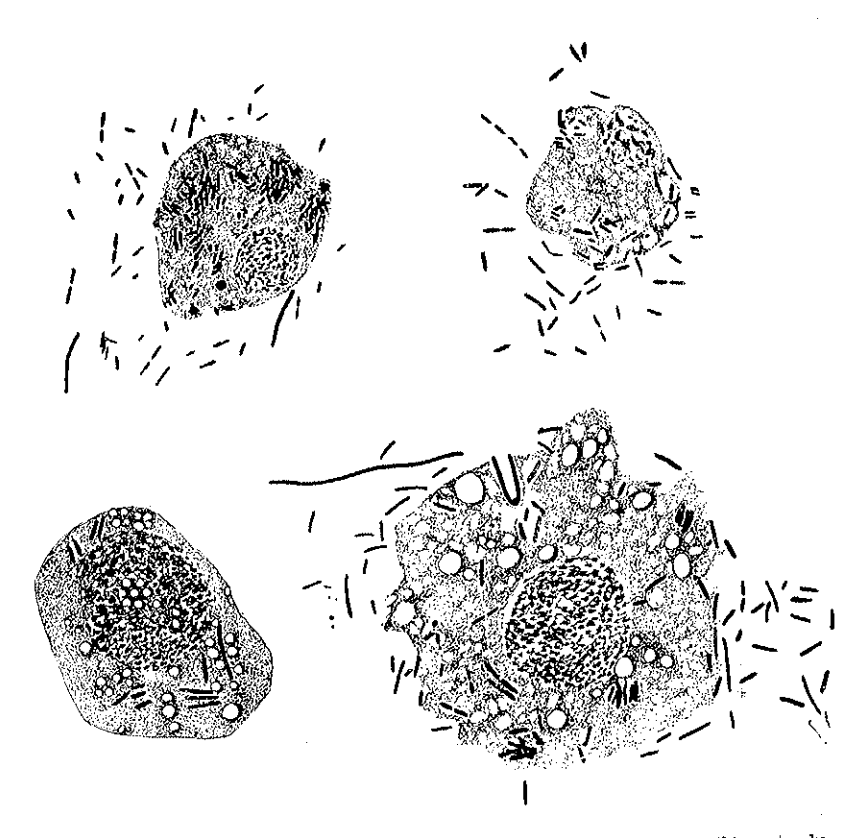


Fig. 114. — Phagocytose du **B. melolonthae n. liquefaciens** α par les éléments du sang d'**E. chrysorrhoea** 24 heures après l'inoculation. Microbes en amas dans le cytoplasme et souvent au milieu de vacuoles ; macronucléocytes avec Bacilles intraprotoplasmiques.

membrane cellulaire isolant celle-ci du milieu environnant. D'autre part, la tension superficielle de la substance constituant la masse du microbe est telle que celui-ci est mouillé par le cytoplasme et peut s'y incorporer directement. Dans le cas particulier du **B. liparis,** on ne constate pas la formation de vacuoles au sein desquelles les microbes incorporés su-



bissent l'action digestive des ferments leucocytaires ; on peut même ajouter que cette vacuolisation, dont Metchnikoff expliquait la formation

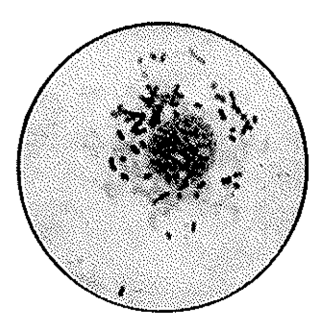


Fig. 115. — Phagocytose de **Diploc. liparis** par un micronucléocyte de **L. dispar.**

par le rabattement des pseudopodes sur la proie englobée, parait exceptionnelle : je ne l'ai observée en effet que dans des cas très rares (Fig. 114) et on ne peut la considérer comme une phase normale du processus phagocytaire.

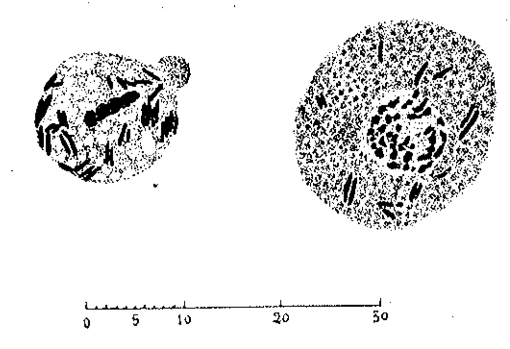



Fig. 116. — Œnocytoïde de chenille de **P. brassicae** et macronucléocyte en voie de mitose avec **B. liparis** intraprotoplasmiques, 22 heures après l'inoculation d'une émulsion chauffée de **B. liparis** dans la cavité générale.

Les micronucléocytes participent seul en général à la réaction de phagocytose ; mais il peut arriver, lorsqu'on a affaire à des microbes très phagocytables comme **B. liparis** par exemple, que les autres éléments englobent aussi un plus ou moins grand nombre de microbes : c'est ce que j'ai observé après inoculation du **B. liparis** dans la cavité générale des

chenilles de **Pieris brassicæ** (Fig. 116). On constate aussi que les cellules en voie de division caryocinétique peuvent phagocyter comme les cel-

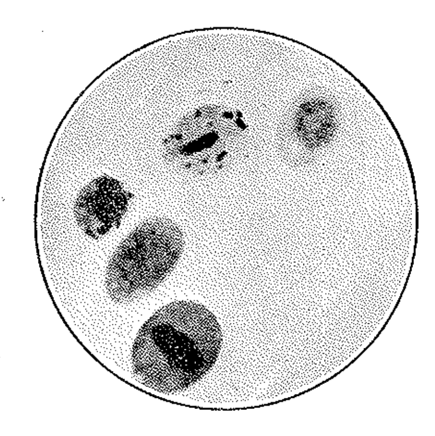


**Fig. 117.** — Sang de chenille d'**E. chrysorrhœa** 50 heures après l'inoculation de **B. liparis** dans la cavité générale. La figure représente un macronucléocyte et un micronucléocyte en voie de mitose, ce dernier, avec Bacilles intraprotoplasmiques.

lules en repos (Fig. 116 et 117) ; HOLLANDE soutient au contraire que les phagocytes sont inaptes à la phagocytose pendant le temps de leur division.

4° La dernière phase de la réaction de phagocytose, c'est-à-dire la digestion des microbes incorporés, ne se produit pas dans le cas de **B. liparis.** Ces Bacilles peuvent même subsister plusieurs semaines dans le cytoplasme des micronucléocytes sans subir d'altération morphologique sensible. Ainsi, des chenilles d'**E. chrysorrhœa** inoculées le 16 mai ne s'étaient pas encore débarrassées de leurs Bacilles le 4 juin, soit dix-neuf jours après la pénétration dans la cavité générale. A cette date, plus de la moitié des micronucléocytes renfermaient encore d'assez nombreux éléments bacillaires d'apparence normale. Même après vingt-quatre jours, l'aspect du sang des trois chenilles en expérience ne s'était pas sensiblement modifié ; la quatrième s'était transformée en chrysalide dans l'intervalle, mais je n'ai pu déterminer avec certitude la présence de Bacilles dans le liquide cavitaire. Il ne faudrait pas déduire de cette dernière observation que le liquide cavitaire des chenilles détruit activement les microbes d'infection ou que la digestion intra-



cellulaire est plus active dans ce liquide que dans le sang des chenilles : en effet dans une autre expérience d'inoculation faite le 20 juillet sur deux chenilles de **L. dispar** parvenues au terme de leur croissance, j'ai constaté le 4 août la présence des Bacilles phagocytés dans les micronucléocytes du liquide cavitaire d'une chrysalide ; dans le liquide cavitaire de la chrysalide provenant de l'autre chenille, il y avait infection secondaire et développement du Bacille (Bacilles longs).

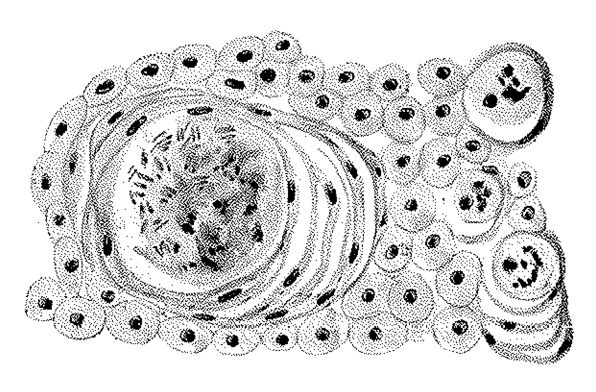


**Fig. 118.** — Capsule formée par les amibocytes de **Galleria mellonella** autour d'un amas de Bacilles tuberculeux (d'après Metalnikov).

En étudiant les processus phagocytaires dans le sang des chenilles de **Galleria mellonella** inoculées avec Bacilles de la lèpre, METALNIKOV a retrouvé les Bacilles dans les chrysalides et même dans les papillons trois et quatre semaines après la contamination. D'après cet auteur, il se forme souvent des capsules à l'intérieur desquelles les Bacilles résistant à l'action des ferments intraleucocytaires peuvent être plus rapidement digérés. Je n'ai rien observé de semblable chez les chenilles contaminées avec **B. liparis** ; et cependant, cette Bactérie est peu sensible à l'action des ferments. Par contre, l'injection de **Streptococcus bombycis** dans la cavité générale des Vers à soie entraîne souvent la formation de plasmodes bien que cette Bactérie soit assez promptement digérée par les micronucléocytes (Fig. 122).

Le Bacille tuberculeux est un de ceux qui déclenchent les processus phagocytaires les plus énergiques dans la cavité générale des chenilles de **Galleria** ; METALNIKOV a montré que la digestion intraleucocytaire se fait avec une rapidité surprenante. FIESSINGER a pu montrer

que la lipase extraite du corps des chenilles de **Galleria** agit sur la cire du Bacille tuberculeux ; cependant cette lipase est incapable de lyser complètement les éléments bacillaires. La formation de plasmodes est fréquente chez les chenilles contaminées avec le Bacille tuberculeux ; d'après METALNIKOV, les macronucléocytes prennent part à cette formation ; à l'intérieur, les Bacilles se transforment rapidement en pigment brun-foncé. HOLLANDE a montré que les capsules sont surtout formées de macronucléocytes. D'après cet auteur, les nodules ne sont pas le produit d'une réaction spécifique contre le Bacille de Koch ; ils se forment en présence de tout corps étranger (Bactéries, Levures, talc, carmin, encre de Chine, etc.).

## FACTEURS ADJUVANTS DE LA PHAGOCYTOSE

Il est bien démontré aujourd'hui que chez les animaux immunisés contre une maladie infectieuse bactérienne, la phagocytose se manifeste avec une énergie plus grande que chez les animaux neufs. J'ai fait de semblables constatations chez les Insectes, mais la loi n'est pas générale; l'exemple du **B. liparis** est à cet égard particulièrement instructif. La théorie actuelle, comme nous l'avons déjà dit précédemment, explique l'accroissement du pouvoir phagocytaire par l'action d'un anticorps, l'opsonine. BORDET envisage deux hypothèses sur le rôle de cette substance hypothétique : « Ou bien la substance que le sérum fournit agit sur les phagocytes pour renforcer leur puissance, se comportant ainsi comme une stimuline ; ou bien elle impressionne les microbes de façon à les rendre aisément phagocytables. « La première hypothèse est celle que défend METALNIKOV. BORDET au contraire ne retient que la deuxième hypothèse ; « ce qui distingue, dit-il, l'organisme vacciné de l'organisme neuf, ce sont les matières dissoutes dans les humeurs et non les qualités propres au phagocyte ». Cette hypothèse est de nature moins spéculative que celle de METALNIKOV ; elle s'appuie, comme nous l'avons vu, sur des faits d'observations indiscutables ; on ne peut nier en effet que les microbes subissent dans le sang des animaux en état d'immunité acquise des altérations qui modifient plus ou moins profondément leur vitalité et leurs propriétés physico-chimiques. En étudiant le mécanisme des réactions humorales chez les Insectes, nous verrons aussi que les Bactéries subissent, dans le sang de ces animaux, des modifications de même nature pouvant aller jusqu'à la transformation du



mode de développement et même, jusqu'à la destruction complète. Il paraît logique d'attribuer à ces altérations de la substance microbienne, la cause des variations d'intensité de la phagocytose bien plus qu'aux changements survenus dans le tactisme des phagocytes.

On admet généralement que les modifications physico-chimiques, celles concernant par exemple la tension superficielle de la substance microbienne qui aboutissent à l'accroissement de la phagocytabilité des microbes, sont le résultat de l'action d'une opsonine. En ce qui concerne plus particulièrement les Insectes, je ne pense pas qu'il soit nécessaire, pour expliquer l'acte de la phagocytose lui-même ou les variations d'intensité à la suite de vaccination, de faire intervenir une substance sensibilisante particulière. Nous verrons, en effet, que les mêmes causes qui déterminent la transformation morphologique et probablement chimique et physico-chimique des microbes, peuvent également déterminer un accroissement de leur phagocytabilité. Or, dans les cas les plus typiques, il est possible de démontrer que les causes d'altération des microbes ne sont pas dues à l'action d'anticorps particuliers en solution dans le sang, ainsi qu'on l'admet généralement. Ces cas peuvent constituer, il est vrai, de simples exceptions à la règle générale ; cependant les faits observés jusqu'à ce jour sont trop nombreux pour être considérés comme de simples exceptions, et il y a tout lieu de penser qu'ils obéissent à une loi générale différente de celle qui est admise par la plupart des bactériologistes.

## INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LA PHAGOCYTOSE

Chez les Vertébrés supérieurs, les variations de la température du corps sont insignifiantes par rapport à celles du milieu dans lequel ils vivent ; l'étude de l'action de la température sur la marche des réactions d'immunité n'offre qu'un médiocre intérêt. Chez les Invertébrés au contraire, le rôle de la température peut être très important, d'autant plus que l'échelle des variations est très étendue. Cette étude, en ce qui concerne les Vertébrés, a été faite par LEDINGHAM en 1908 ; cet auteur observa que, dans un mélange de sérum normal et de Staphylocoques soumis pendant un temps déterminé à des températures variables, le nombre des microbes englobés par les phagocytes diminuait plus ou moins régulièrement avec la température ; cette diminution, au moins lorsque la température est comprise entre 37 et 18° C, paraît due à

la réduction du taux de combinaison de l'opsonine du sérum avec les Staphylocoques. Le même auteur montra que le contact prolongé du sérum avec les microbes à basse température (18° à 7° C) déterminait un maximum d'absorption de l'opsonine par les Cocci (maximum correspondant à la température de l'expérience), de sorte que la phagocytose subséquente restait la même que la température soit 37° ou 18°.

Ainsi pour LEDINGHAM, la phagocytose est surtout fonction de la sensibilité des microbes pour l'opsonine du sérum ; la température intervient seulement pour accélérer cette sensibilisation et non pour accroître l'énergie phagocytaire des leucocytes. Il émet d'ailleurs l'opinion que la phagocytose est, avant tout, un effet de la tension superficielle et que « l'énergie amiboïde » ne joue qu'un rôle secondaire dans le processus de cette réaction d'immunité.

Mes expériences propres ont été faites avec **B. liparis.** Deux chenilles de **L. dispar** de même grosseur sont inoculées avec une même quantité d'une émulsion de Bacilles provenant d'une culture sur gélose de trois jours. L'une des deux chenilles est laissée à la température du laboratoire (19° C), l'autre est placée à l'étuve à 33°. Le sang de chacune est examiné sur frottis coloré après 10, 20, 40 minutes et 1 heure.

Après 10 minutes, la phagocytose est à peine commencée ; la très grande majorité des micronucléocytes de l'une et l'autre chenilles ne renferment aucun Bacille ; on observe cependant que quelques-uns de ceux-ci sont collés à la surface de certains micronucléocytes dans le sang de la chenille placée à l'étuve.

Après 20 minutes, l'aspect du sang de la deuxième chenille est peu modifié ; dans celui de la première, au contraire, la majorité des micronucléocytes renferment des Bacilles dans la couche cytoplasmique ou en retiennent sur leur pourtour ; le nombre des Bacilles libres est très diminué et la différence d'aspect du sang de chaque chenille est très accentuée.

Après 40 minutes, la différence s'accentue encore : les Bacilles libres sont nombreux dans le sang de la chenille maintenue à la température de 19°, tandis qu'ils sont devenus beaucoup plus rares dans celui de l'autre chenille (moins de un élément par champ microscopique).

Une heure après l'inoculation, la réaction est à peu près terminée dans le sang de cette chenille tandis qu'elle ne le sera qu'après cinq heures dans celui de l'autre.



Dans une autre expérience, quatre chenilles de **L. dispar** ont été inoculées avec la même émulsion de **B. liparis** ; deux furent maintenues à la température de 18°, les deux autres à 33°. Après deux heures et demie, la réaction phagocytaire était à peu près terminée dans le sang des deux dernières, tandis que dans celui des deux autres, elle ne l'était pas encore quatre heures après l'inoculation.

Dans une dernière série d'expériences poursuivies au cours de la saison d'hiver, des chenilles de **Pieris brassicæ** inoculées avec une émulsion de Bacilles provenant d'une culture sur gélose de cinq jours, furent maintenues : les unes à température voisine de 0°, les autres à température de 24° et 30° C. Dans le sang des chenilles du premier lot, la réaction de phagocytose fut très ralentie et n'était généralement pas encore terminée après vingt-quatre heures. Dans celui des chenilles placées à l'étuve, la réaction fut beaucoup plus accélérée ; mais, le plus souvent, les chenilles ne purent avoir raison du parasite et succombèrent à l'infection après un temps variable pour chacune d'elles. Beaucoup de celles qui paraissaient résister à l'infection à basse température et dans le sang desquelles on ne rencontrait qu'un nombre insignifiant de Bacilles libres, s'infectaient ensuite si on les plaçait à l'étuve. Ce fait d'expérience montre que les chenilles de Piérides sont incapables de s'immuniser contre le **B. liparis** ; ce manque de résistance est bien plus un effet de la résistance offerte par le Bacille à l'action destructive du sang qu'une conséquence de l'inaptitude des phagocytes à modifier leur tactisme. Le même fait d'expérience constitue une première preuve en faveur de l'hypothèse que j'ai adoptée pour expliquer les variations de phagocytabilité des microbes dans l'organisme des Insectes : il montre en effet qu'un microbe sur lequel le sang est sans action, conserve toujours sa même affinité pour les éléments phagocytants.

Les conclusions de mes expériences sur le rôle de la température confirment, d'une manière générale, celles de LEDINGHAM : l'intensité de la phagocytose décroît plus ou moins régulièrement avec la température. Des constatations analogues ont été faites par METALNIKOV et CHORINE chez les chenilles de **Pyrausta nubilalis** en état d'infection microbienne. Ces deux auteurs ont constaté qu'il n'y avait pas de phagocytose en-dessous de 10° C ; à 10-12° la réaction commence au bout de une à deux heures ; le maximum d'activité se produit 4 à 6 heures après l'inoculation.

A quelle cause peut-on attribuer la diminution d'intensité de la phagocytose à mesure que s'abaisse la température ? En admettant, comme Ledingham, l'existence d'un anticorps particulier préparant les microbes, les sensibilisant à l'action des phagocytes, on peut logiquement soutenir l'opinion que l'action de la température s'exerce en modifiant le taux de combinaison de cette substance hypothétique sensibilisante avec les microbes. Mais une telle explication repose sur deux hypothèses ; il faut d'abord supposer l'existence de l'opsonine ; puis il faut admettre que le taux de combinaison de cette substance avec les microbes augmente ou diminue avec la température. L'École de Metchnikoff expliquerait les variations d'intensité de la phagocytose par l'augmentation ou la diminution de l'énergie phagocytaire sous l'influence directe de la température ; mais il faudrait alors admettre que le phagocyte vit d'une vie propre, qu'il agit à la manière d'une Amibe dont les mouvements seraient plus ou moins paralysés par l'abaissement de la température ambiante. Cette conception, de nature essentiellement finaliste, est très séduisante, mais elle ne résiste pas à la critique et elle est en contradiction avec la plupart des faits d'expériences ou d'observations signalés jusqu'ici.

En étudiant le mécanisme de la phagocytose, nous avons vu que cette réaction résultait moins d'un jeu des forces vitales proprement dites que de forces mécaniques ayant pour origine les rapports de surface entre deux corps de nature essentiellement différente : le phagocyte d'une part, le microbe d'autre part. Ces rapports de surface ne sont pas immuables et on comprend que l'action de la chaleur ou celle du refroidissement qui modifient plus ou moins la viscosité du sang, modifient, par cela même, les affinités entre microbes et phagocytes.

L'explication ainsi donnée du rôle de la température dans la marche des processus phagocytaires est malheureusement très insuffisante ; mais on connaît très mal encore les lois qui régissent les rapports des colloïdes entre eux, surtout lorsque ces colloïdes font partie d'organismes vivants. Quand on connaîtra mieux cette branche de la chimie biologique, il est probable que le mécanisme intime de la phagocytose, comme celui de toutes les autres réactions d'immunité, s'expliquera très simplement sans qu'il soit nécessaire de faire intervenir des propriétés vitales particulières de cellules ou de substances particulières élaborées par les leucocytes.



Article 3

## LES RÉACTIONS DE CONTACT

Dans son rapport sur le problème de l'immunité chez les Invertébrés, Cantacuzène mentionne pour la première fois ce type particulier de réaction cellulaire. « Voilà, dit-il, une question à peine entrevue et dont le point de départ repose sur l'observation suivante : on connaît un petit nombre de cas où des réactions d'immunité telles que l'agglutina-

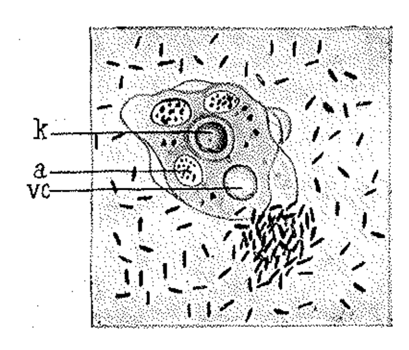



**Fig. 119.** — Amibe nourrie de **B. coli** et plongée dans une solution faible de rouge neutre. Les microbes, dans plusieurs vacuoles digestives, sont colorés par le rouge (a). Au voisinage de la vacuole pulsatile s'est formé un amas de microbes agglutinés. Gr. 1.000 env. (d'après Mouton).

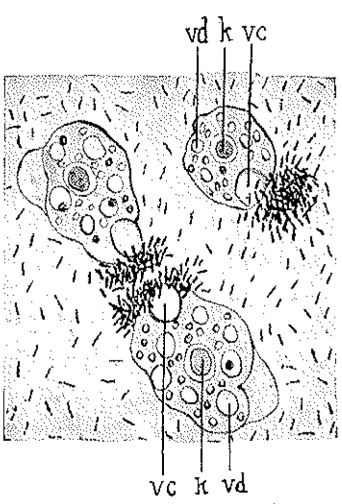



**Fig. 120.** — Amibes nourries de **B. coli** dans une solution faible (2 p. 1.000) de rouge de ruthénium. La couleur n'a pas encore pénétré les Amibes; les microbes libres dans le liquide et ceux qui sont agglutinés au voisinage de la vacuole pulsatile ont pris la couleur. Gros. 850 env. (d'après Mouton).

tion ou la lyse font défaut dans le sang de l'animal normal ou vacciné alors qu'elles se manifestent au contact de certaines cellules ou de certains tissus, comme s'il existait au voisinage immédiat de ces éléments (intacts ou lésés) une zone dans laquelle se passeraient des actions liées à la présence de la cellule qui agirait, soit en créant autour d'elle une zone de diffusion de certaines substances chimiques, soit en met-

tant en jeu certains facteurs d'ordre physique ». La première observation concernant ces réactions de contact a été faite par MOUTON en 1902. Cet auteur étudiant la digestion chez une Amibe nourrie avec **Bacillus coli commune**, a constaté l'existence d'amas microbiens assez

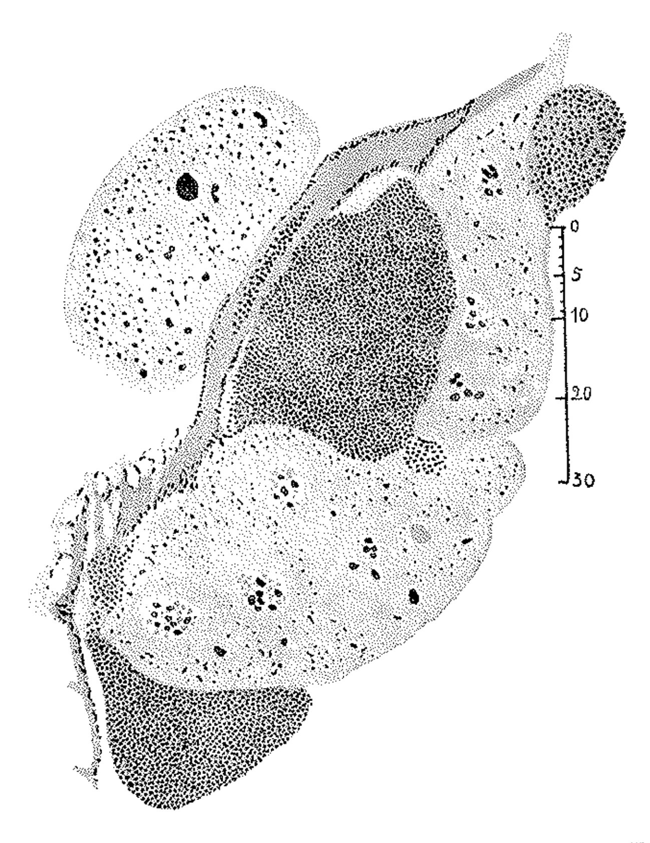



**Fig. 121.** — Coupe longitudinale dans la région du vaisseau dorsal d'un Ver à soie inoculé depuis 2 jours avec une émulsion de Streptocoques; agglutination des Streptocoques au contact des cellules péricardiales et pénétration des masses microbiennes à l'intérieur des cellules. Fixation au formol salé; coloration de Kull.

volumineux au contact de la cellule amibienne, dans le voisinage immédiat de la vacuole pulsatile dont la position est généralement périphérique. « Cette propriété, dit-il, a été surtout observée chez les Amibes nourries depuis longtemps exclusivement avec **B. coli.** S'agit-il là, comme pour les leucocytes des Vertébrés, d'une propriété acquise et



est-elle limitée à l'espèce microbienne à laquelle l'Amibe s'est adaptée ? Nous penchons pour l'affirmative. En effet, nous n'avons jamais observé de phénomènes semblables chez les Amibes nourries de Staphylocoques ».

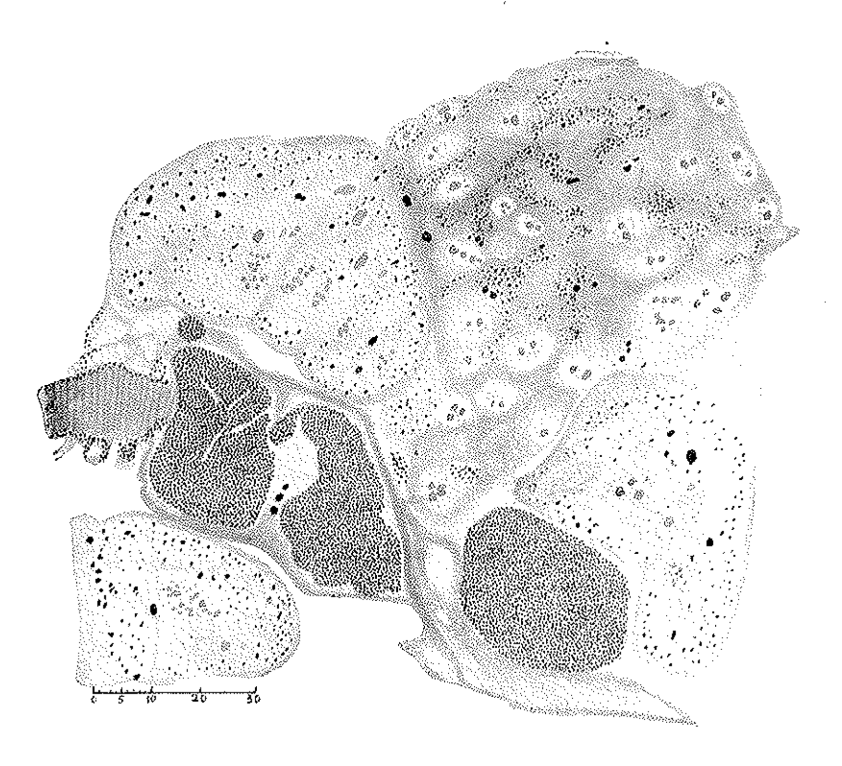


**Fig. 122.** — Coupe longitudinale dans la paroi du vaisseau dorsal d'un Ver à soie inoculé depuis 2 jours avec une émulsion de **Streptococcus bombycis.** Syncytium encastré entre 2 groupes de cellules péricardiales. Fixation au formol salé; coloration de Kull.

CANTACUZÈNE a observé un certain nombre de faits qui rentrent dans la catégorie des réactions de contact : « agglutination des Bactéries au contact des amibocytes adipophores chez l'**Ascidia mentula** en train de faire sa crise au contact des amibocytes hyalins plus ou moins phagolysés ; l'agglutination par petits paquets des Bactéries au contact des parois lacunaires chez la **Maia** infectée expérimentalement ou bien par énormes paquets de microbes complètement immobilisés au contact de tissu conjonctif ou de néphrophagocytes mélangés **in vitro** au sérum

de l'animal, sérum qui, par lui-même, ne possède aucun pouvoir agglutinant vis à vis de l'antigène employé ; rappelons encore l'agglutination du **Bacillus coli** dans les lacunes branchiales d'**Eupagurus prideauxii,** alors que ce même phénomène ne se produit pas dans le sang circulant ».

J'ai pu observer moi-même de très belles réactions de contact chez le Ver à soie inoculé avec **Streptococcus bombycis.** Après l'inoculation,

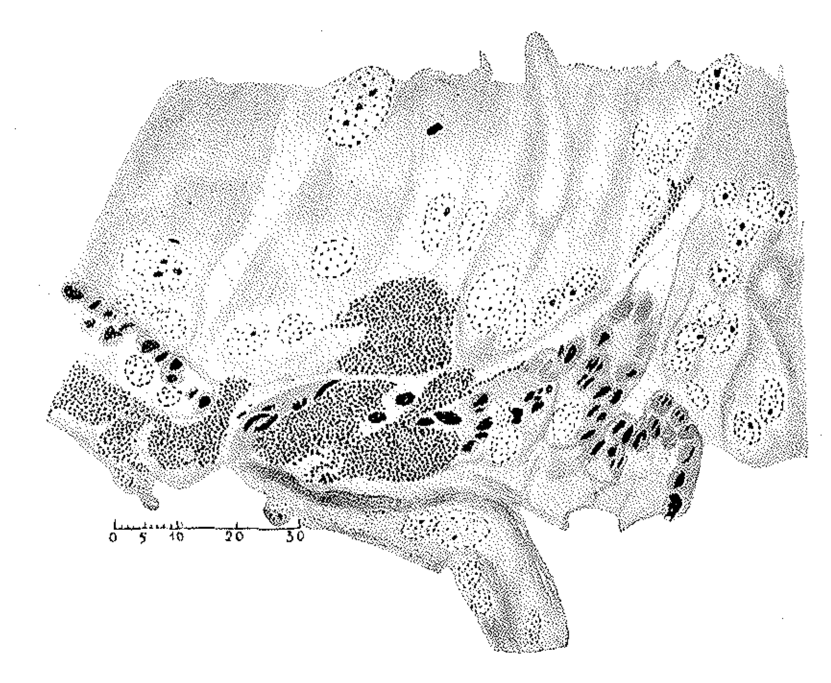



Fig. 123. — Coupe longitudinale dans la partie postérieure de l'intestin moyen d'un Ver à soie inoculé depuis 2 jours avec culture de Streptocoques. Fixation au Duboscq-Brasil; coloration à l'hématoxyline.

lorsque la quantité de Bactéries injectée est suffisante, on observe d'énormes amas bactériens au contact de certaines cellules fixes, en particulier des cellules péricardiales et péritrachéales ; ces amas s'étalent plus ou moins à la surface des cellules (Fig. 121), puis pénètrent à l'intérieur de la couche cytoplasmique sans qu'il y ait émission préalable de pseudopodes ; tout se passe comme si les substances bactérienne et cellulaire devenaient mouillables l'une par l'autre ; c'est là une preuve nouvelle de la passivité de la cellule phagocytante.



Les amas streptococciques pénètrent non seulement dans les cellules péricardiales, mais aussi dans la paroi du vaisseau dorsal qu'ils dilatent considérablement ainsi qu'on peut s'en rendre compte dans la figure 121.

Les Bactéries ingérées par les cellules fixes qu'on ne s'attend généralement pas à voir jouer semblable rôle, sont assez rapidement digérées comme dans le cytoplasme des éléments mobiles spécialisés dans le rôle de défense phagocytaire.

Malgré l'intensité des réactions phagocytaires, tous les Vers à soie contaminés avec le **St. bombycis** contractent la maladie dite des « têtes claires » causée par ce parasite (cette maladie ne doit pas être confondue avec la gattine dont la cause est un ultravirus). C'est que les éléments bactériens de la cavité générale sont en partie drainés vers le tube digestif par un mécanisme qui a été longuement expliqué dans mes ouvrages sur les maladies du Ver à soie ; c'est dans cet organe qu'ils déclenchent les processus caractéristiques de la maladie.

En étudiant le mécanisme de la symbiose chez les Pucerons, nous verrons que les réactions de contact jouent un rôle important non soupçonné jusqu'ici.

Article 4

## LA RÉACTION DE CARYOCINÉTOSE

Ce n'est pas à proprement parler une réaction d'immunité comme la phagocytose ou les réactions humorales car elle ne concourt pas directement à l'accroissement de résistance de l'individu à l'infection, mais elle fait partie du processus immunitaire et c'est à ce titre que je l'étudie ici. Elle correspond d'ailleurs à des réactions de même ordre observées chez les Vertébrés en état d'immunité (fonctionnement anormal des organes hématopoiétiques).

C'est en 1919 que j'ai signalé pour la première fois son existence. La première observation qui se rapporte à cette réaction date de fin mai 1918 ; elle a eu pour objet l'expérience suivante :

Quatre chenilles d'**E. chrysorrhœa** de différentes grosseurs étaient inoculées le 28 mai avec une émulsion de **B. melolonthae non liquefaciens** γ provenant d'une culture sur gélose de huit jours et maintenues à

la température du laboratoire (17°C environ) ; 24 heures après l'inoculation, les deux plus petites chenilles mouraient en état d'infection ; les deux autres paraissaient normales et dans leur sang, on ne rencontrait aucun Bacille libre. Par contre, les micronucléocytes englobaient dans leur cytoplasme des Bacilles normaux et des granules en nombre assez grand ; les granules résultent de l'action bactériolytique du plasma sur les Bacilles. Les formules leucocytaires du sang des chenilles étaient les suivantes :

| | Chenille N° 1 | Chenille N° 2 |
|---|---|---|
| Micronucléocytes | 40 % | 32,5 % |
| Cellules sphéruleuses | 7 % | 23 % |
| Petits macronucléocytes | 1,5 % | 1 % |
| Macronucléocytes arrondis ou fusiformes | 48,5 % | 43 % |
| Œnocytoïdes | 1 % | 1 % |

Dans chacune des deux chenilles, la proportion des éléments en voie de division caryocinétique ne dépassait pas la normale, c'est à dire 3 à 4 p. 1.000.

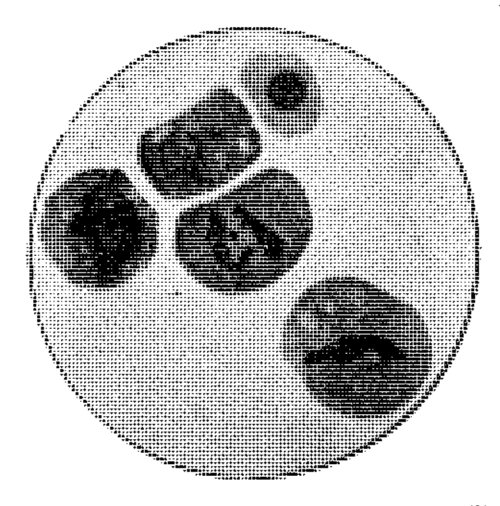


Fig. 124. — Réaction de caryocinétose dans le sang d'une chenille de **L. dispar**, après inoculation de **B. melolonthae non liquefaciens** γ.

Quarante-huit heures après l'inoculation, la formule leucocytaire semblait sensiblement la même que la veille : une grande partie des Bacilles et granules phagocytés étaient résorbés ou en voie de digestion. Ce qui frappait la vue, en examinant les frottis de sang à un faible grossissement, c'était l'abondance des figures de mitose : de 3 à 4 p. 1000 qu'elle était la veille, la proportion de ces figures s'est élevée à 30 à 40 p. 1000 ; elle avait donc décuplé.



J'ai répété un très grand nombre de fois, en 1919, l'expérience de 1918 en utilisant d'autres microbes peu pathogènes et des chenilles d'espèces différentes ; dans la majorité des cas, quel que fût l'âge ou l'état

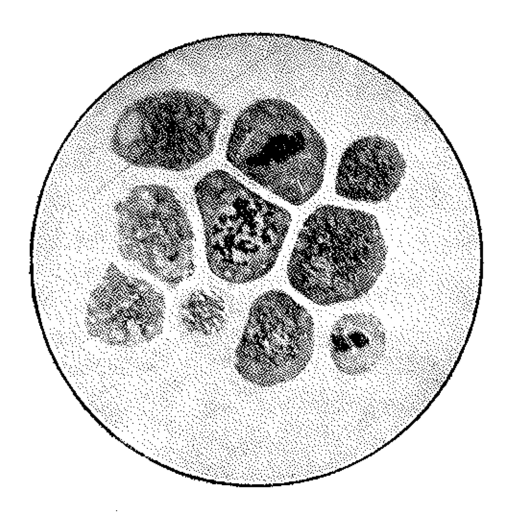


Fig. 125. — Réaction de caryocinétose dans le sang d'une chenille d'**E. chrysorrhœa**, 48 heures après injection d'une culture chauffée de **B. melolonthae non liquefaciens** γ

de la chenille, pendant la mue ou entre deux mues consécutives, à la veille de la chrysalidation ou au cours des premiers âges, j'ai toujours observé, après une période latente plus ou moins longue, une augmentation très nette des figures de mitose dans le sang.

La conclusion qui se dégage de mes premières expériences, c'est que les chenilles dites résistantes réagissent généralement à l'injection de microbes peu virulents par une multiplication anormale des éléments du sang et plus spécialement des macronucléocytes. La réaction ne se manifeste pas toujours après la même période latente : ainsi après l'inoculation du **B. melolonthæ non liquefaciens** γ dans la cavité générale des chenilles d'**E. chrysorrhœa**, la réaction commençait généralement au

bout de 48 heures, mais elle pouvait aussi être avancée ou retardée de quelques heures. L'injection du même Bacille aux chenilles de **Mamestra brassicæ**, L., déclenchait sensiblement plus tôt la réaction de caryocinétose : il n'était pas rare par exemple de voir apparaître les premières figures de mitose anormale vingt heures après l'inoculation ; quelquefois même, la période latente était réduite à 15 heures. La durée de la réaction est aussi très variable ; elle se poursuit généralement pendant

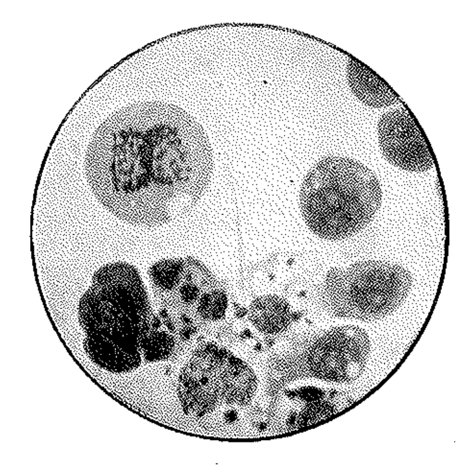


Fig. 126. — Réaction de caryocinétose dans le sang de **L. dispar**. Le stade de division mitotique représenté paraît atypique; il suit immédiatement le stade représenté par la bande équatoriale ou peut-être le premier stade ; normalement, la bande équatoriale se divise longitudinalement en deux bandes qui s'éloignent l'une de l'autre.

plusieurs jours (2 à 3 en moyenne). Son intensité varie avec les individus inoculés, mais dans de faibles limites. Le chauffage, la filtration sur porcelaine, n'altèrent pas sensiblement les propriétés de l'émulsion microbienne au point de vue de son action sur les macronucléocytes. On peut donc considérer la caryocinétose comme la conséquence directe de l'action d'un produit microbien particulier sur les macronucléocytes ; la réaction apparaît par suite comme un phénomène indépendant de la phagocytose.

Le produit microbien qui détermine dans la cellule le déclenchement du processus caryocinétique est caractérisé par sa grande thermo-



stabilité ; il n'est pas détruit à la suite de chauffage à 80° C ; l'ébullition, même prolongée pendant quelques minutes, l'altère à peine ; le chauffage au-dessus de 100°, par contre, le détruit très rapidement.

Je m'étais posé, au début de mes recherches sur la caryocinétose, la question de savoir si ce phénomène réactionnel devait être considéré comme une réaction véritable d'immunité, c'est-à-dire comme une réaction concourant effectivement à l'accroissement de résistance de l'Insecte à l'envahissement des tissus par le parasite bactérien. A cette question, j'avais d'abord répondu par l'affirmative, les Insectes très sensibles aux infections bactériennes, comme les chenilles de **Vanessa urticæ, Eriogaster lanestris, Pieris brassicæ et Pieris rapæ**, ne présentant pas la réaction de caryocinétose. Or la phagocytose est plus ou moins active dans le sang de toutes ces espèces ; elle est même très active vis à vis certaines espèces microbiennes comme **B. liparis** par exemple, et cependant la mortalité est élevée parmi les chenilles inoculées. Donc affirmais-je, s'il n'y a pas là une preuve absolue du rôle actif de la caryocinétose dans l'immunité, du moins y a-t-il de fortes présomptions en faveur de cette hypothèse.

J'avais même admis un instant l'hypothèse que les macronucléocytes qui participent seuls à la réaction, jouaient un rôle actif dans l'immunité en sécrétant, par exemple, des anticorps empêchants vis à vis du développement des microbes ou favorisants par rapport à leur englobement par les micronucléocytes. On voit là le danger des idées préconçues et des doctrines en biologie.

Après les constatations faites dans mes recherches sur le mécanisme de l'immunité humorale, il ne m'était plus permis de soutenir une telle opinion. Si la multiplication anormale des macronucléocytes après injection de microbes peu pathogènes peut être considérée comme un phénomène biologique faisant partie effectivement des processus immunitaires, il ne s'en suit nullement que cette multiplication doive avoir pour conséquence un renforcement de l'état d'immunité. D'ailleurs la réaction ne se produit pas seulement après injection de Bactéries peu pathogènes, mais également après contamination par des espèces très pathogènes comme **B. melolonthæ liquefaciens** $\alpha$, **B. lymantricola adiposus** ; la réaction a été nettement observée dans le sang des chenilles de **Mamestra brassicæ.** Il est juste de mentionner que la caryocinétose ne se manifeste que si les Bacilles inoculés proviennent de cultures longtemps entretenues par repiquage sur milieu artificiel ; ils ont

ainsi perdu leur virulence primitive mais sont néanmoins capables de tuer les chenilles à dose relativement faible.

Enfin la caryocinétose peut être provoquée non seulement par les émulsions bactériennes, mais aussi par des substances albuminoïdes diverses comme le blanc d'œuf ou les liquides organiques, comme le sang de Vertébrés (Mammifères, Oiseaux, Batraciens) et même le sérum seul.

On peut rapprocher de ces faits ceux observés chez les Vertébrés : on sait par exemple que les organes hématopoïétiques des Mammifères, la rate et les ganglions lymphatiques en particulier, fonctionnent anormalement lorsque l'organisme est en état d'infection. BEZANÇON et LABBÉ ont montré d'autre part que les maladies à mononucléose, c'est-à-dire celles où les organes producteurs de mononucléaires déversent dans le sang une quantité anormale de ces éléments, sont précisément celles qui laissent après elles une immunité durable (variole, typhoïde par exemple). D'un autre côté, dans les maladies à polynucléaires, la mononucléose apparaît à la convalescence et lorsqu'il y a un essai d'immunisation, au moins pour un temps.

M. DE LAET s'est posé la question de savoir au niveau de quels organes l'influence des microbes introduits dans l'organisme des Vertébrés, agissait pour exciter la prolifération des éléments producteurs de leucocytes. La méthode employée pour résoudre cette question est basée sur celle imaginée par CARREL (culture **in vitro** des tissus). Comparant deux cultures de rate de Cobaye, l'un inoculé depuis vingt-quatre heures avec Bacilles typhiques, l'autre normal, DE LAET a constaté, vers le troisième ou quatrième jour, que la rate du premier Cobaye était entourée d'une zone blanchâtre, alors que celle du Cobaye neuf avait conservé son aspect primitif. Le maximum d'épaisseur de la zone blanche était atteint 80 à 96 heures après la mise en culture. Cette zone est constituée uniquement par des leucocytes polynucléaires. Donc, « il est hors de doute, conclut DE LAET, qu'au cours d'une forte inoculation de Bacille d'Eberth, la rate est le siège d'une réaction très intense qui met en liberté un nombre considérable de leucocytes polynucléés ». Il résulte aussi d'une autre expérience de l'auteur que « la toxine typhique ne détermine pas elle-même, par son seul contact avec le tissu splénique, cette formation de polynucléaires ». Il existerait donc, dans le sang des animaux en état d'infection, un facteur intermédiaire jouant ce rôle d'excitant et prenant naissance à la suite de l'injection de l'émulsion bacillaire. Cette hypothèse est conforme à celle de J.-P. GAY



et EDITH CLAYPOLE qui attribuent au sérum immunisant le rôle d'excitant sur les organes producteurs de leucocytes.

La production anormale de leucocytes ne résulte pas seulement de l'injection de microbes. Dès 1907, ACHARD et WEIL montraient que l'injection intra-veineuse de collargol au Lapin déterminait une forte réaction des organes hématopoïétiques, en particulier de la moelle osseuse, de la rate et du thymus. Ainsi dans la moelle osseuse, les auteurs ont noté, au début, une congestion de l'organe et une notable prolifération qui va en diminuant du troisième au dixième jour ; dans la rate, aux troisième et cinquième jours, une hypertrophie et prolifération des corpuscules de Malpighi transformés en centres germinatifs ; leurs cellules sont de grands mononucléaires clairs entourés d'une couronne de lymphocytes. Dans la pulpe légèrement congestionnée, on trouve par places des polynucléaires neutrophiles et éosinophiles et l'on note un réveil des cellules du réticulum. Le thymus est le siège de modifications analogues à celles observées dans la rate.

DUSTIN, par des recherches originales sur l'influence des variations du métabolisme sur l'histophysiologie du thymus, a montré que cet organe réagissait essentiellement par ses petites cellules. « Le jeûne, la suppuration, la maturation des produits sexuels, l'allaitement s'accompagnent d'une diminution par pycnose du nombre des petites cellules. La suralimentation, particulièrement, si elle est faite au moyen de substances riches en nucléine, produit la multiplication cinétique des cellules souches et l'augmentation de volume de l'organe ». Rapprochant ces constatations de celles plus anciennes faites par R. BLUMENTHAL dans la moelle osseuse, après injection de substances diverses comme le vitellus d'œuf de Poule, DUSTIN se pose les questions suivantes, très importantes par les perspectives nouvelles qu'elles ouvrent sur le problème général de la physiologie des organes : « Quand, comment et pourquoi des mitoses se produisent-elles dans les divers tissus d'un Métazoaire arrivé à l'état adulte et par quel mécanisme le nombre et la topographie de ces mitoses se trouvent-ils déterminés ? »

En expérimentant sur des Souris, DUSTIN est arrivé à montrer que l'injection intrapéritonéale de sérum humain déclenchait vers le troisième ou quatrième jour une « onde de cinèses » dans l'organisme de la Souris. Les cinèses ne sont pas localisées seulement au thymus ou à la moelle osseuse, mais semblent se produire « partout où se trouvent des cellules aptes à se multiplier : rate, plaques de Peyer, ganglions lympha-

tiques, épithélium intestinal épididyme même ». Les cinèses disparaissent généralement du huitième au dixième jour. Le chauffage du sérum injecté (30 minutes à 56°) ne détruit pas ses propriétés excitatrices. Si une deuxième injection est faite treize jours après la première, le déclenchement de l'onde cinétique a lieu après une période de latence de quatre jours. « Le sérum lui-même, se demande DUSTIN, renferme-t-il la substance ou tout au moins une partie indispensable du complexe provocateur de la mitose ? ». L'auteur penche pour l'hypothèse suivante : la substance active serait en réalité le produit de digestion de l'albumine étrangère par les leucocytes.

Dans une note plus récente, DUSTIN, en collaboration avec Mlle CHAPEAUVILLE, a montré que l'injection intrapéritonéale de peptone, comme celle du sérum, déclenchait une onde de cinèses, dans les mêmes organes cités plus haut. Ce fait montrerait que « des produits de désintégration d'albuminoïdes peuvent provoquer l'onde de mitoses, mais également avec période de latence. Il ne semble donc pas, ajoutent les deux auteurs, que parmi les substances diverses contenues dans la peptone employée, il y en ait une capable de provoquer directement la mitose, sans l'intervention d'un mécanisme cytologique ou humoral réalisé par l'organisme injecté ». Les auteurs ont constaté aussi que l'accumulation des noyaux dans les organes dont les cellules se multiplient anormalement, est empêchée par la multiplication des pycnoses dans les mêmes organes et ils arrivent à cette conclusion que « la pycnose n'est pas un phénomène dégénératif accidentel, mais qu'elle doit être considérée comme une manifestation physiologique importante ».

Les seuls cas de pycnose que j'aie observés chez les Insectes ne peuvent être considérés comme des manifestations d'ordre physiologique, ils ne se produisent jamais après la multiplication anormale des macronucléocytes, mais seulement après inoculation de certains microbes pathogènes.

Les conclusions des recherches de DUSTIN sont d'une grande importance ; elles font sortir la question de l'hyperactivité fonctionnelle des organes hématopoïétiques du cadre étroit dans lequel on l'avait placée ; il ne s'agit plus en effet de savoir dans quelles conditions particulières réagissent ces organes au cours d'une infection, mais bien de déterminer les causes générales de production des mitoses dans les tissus des Métazoaires adultes ainsi que les conditions dans lesquelles se manifestent ces réactions cellulaires et tissulaires.



Si on compare les faits observés chez les Insectes à ceux de même nature qu'on observe chez les Vertébrés, on constate les plus grandes analogies dans la marche des processus ; les seules différences observées sont les suivantes : raccourcissement de la période de latence et simplification du processus réactionnel (une seule catégorie de cellules réagit dans l'organisme des chenilles). On peut donc considérer la réaction de caryocinétose, non seulement comme une réaction d'immunité (**sensu lat.**), mais comme un phénomène physiologique d'ordre très général se rattachant à ceux mis en évidence par DUSTIN chez la Souris et par les auteurs cités plus haut chez l'Homme, le Cobaye ou le Lapin.

---

CHAPITRE XVI

# Les réactions humorales d'immunité.

Il y a peu d'années encore, on admettait que l'immunité, chez les Invertébrés, était de nature essentiellement cellulaire. Nous avons vu que GLASER en 1918 avait admis la possibilité de l'existence d'une immunité humorale chez les Insectes. Depuis, les recherches sur ce problème se sont multipliées et aujourd'hui on ne met plus en discussion cette existence. Mes recherches propres ont été effectuées avec les Bactéries entomophytes que j'avais isolées moi-même de divers Insectes nuisibles ou utiles. J'ai pu constater que le mécanisme des réactions variait considérablement suivant les espèces bactériennes. Nous étudierons donc en détail des différents types de réaction observés.

## Article 1.

### IMMUNITÉ DES CHENILLES CONTRE B. MELOLONTHÆ NON LIQUEFACIENS ε

L'expérience suivante résume les différentes phases du processus réactionnel observé chez les chenilles d'**Agrotis segetum** :

Une chenille est inoculée le 19 novembre 1919, à 10 h. 30, avec une émulsion de Bacilles provenant d'une culture jeune sur gélose ;

pendant tout le temps de l'expérience, la chenille est maintenue à la température de 24° C.

Un quart d'heure après l'inoculation, le sang de la chenille ne se distingue du sang normal que par la présence de nombreux Bacilles minces et courts (aspect normal des Bacilles de culture) et par la diminution très sensible du nombre des éléments cellulaires (leucopénie) ; d'autre part, un certain nombre de ces cellules sont en état de phagolyse. Nous avons vu que ces deux phénomènes : leucopénie ou hypoleucocytose et phagolyse, se produisent normalement après l'injection d'émulsions bactériennes dans la cavité générale des Insectes ou même après simple injection d'eau physiologique.

Une heure après l'inoculation, les Bacilles libres du sang, toujours aussi nombreux, n'ont pas encore changé d'aspect et ne paraissent pas en voie de multiplication ; la proportion des éléments cellulaires du sang est redevenue sensiblement normale ; la réaction de phagocytose est à peu près nulle et la plus grande partie des micronucléocytes ne renferment aucun Bacille dans leur cytoplasme.

Après deux heures, le faciès des Bacilles a changé : les éléments bacillaires sont en général plus gros et plus longs ; d'autre part, ils commencent à se multiplier activement (abondance des Diplobacilles). On ne constate toujours pas de progrès dans l'intensité de la phagocytose.

Après trois heures, l'aspect du sang est le suivant : nombreux Bacilles libres présentant l'aspect de Coccobacilles typiques ; un petit nombre d'éléments bacillaires sont restés minces et courts (probablement, Bacilles morts). Quelques Coccobacilles, après coloration par le Giemsa, se présentent entourés d'une capsule assez épaisse mais surtout colorée sur le pourtour. L'apparition de capsules paraît être la première manifestation de l'activité humorale de l'Insecte ; nous reviendrons sur cette curieuse réaction. Phagocytose insignifiante.

Quatre heures après l'inoculation, la proportion des Bacilles normaux en suspension dans le sang est sensiblement augmentée ; celle des Bacilles encapsulés est stationnaire ; on observe la présence d'un petit nombre d'éléments microbiens d'aspect granulaire : ces granules résultent de la transformation des Coccobacilles normaux (Phénomène de PFEIFFER). La réaction de phagocytose commence à se manifester avec une certaine intensité.



Après cinq heures, la proportion des granules dans le sang est très sensiblement augmentée ; mais le nombre des Coccobacilles normaux ou encapsulés ne paraît pas diminué ; il y aurait ainsi équilibre entre l'activité vitale des Bacilles et l'action bactériolytique du sang. On observe d'autre part que la proportion des Bacilles encapsulés est toujours stationnaire. On pourrait croire que la présence de capsule soit un obstacle à l'action destructive du sang ; certains auteurs ont interprété en effet le gonflement de la membrane bactérienne comme une réaction de défense du microbe contre l'action sanguine. Dans le cas qui nous occupe, on constate au contraire que beaucoup de Bacilles encapsulés ont subi la transformation granulaire comme les Coccobacilles normaux. En même temps que le microbe change de forme, la capsule se modifie aussi profondément : elle semble s'étaler et tend à s'arrondir, mais ses contours deviennent plus ou moins irréguliers (Fig. 127) ; elle se colore moins intensément par le Giemsa et prend une teinte rose pâle.

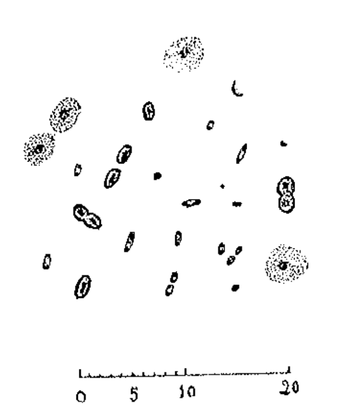



**Fig. 127.** — Réaction humorale dans le sang de chenille d'*A. segetum* 5 heures après injection de *B. melolonthae non liquefaciens* ε dans la cavité générale.

Les Coccobacilles en voie de transformation granulaire sont facilement reconnaissables sur les frottis colorés à la thionine ou aux autres couleurs d'aniline ; ils perdent la propriété de se colorer plus intensément aux deux pôles et prennent une teinte uniforme ; on observe en même temps qu'ils se raccourcissent sensiblement jusqu'à réaliser la forme de granules parfaitement arrondis.

Six heures après l'inoculation, la transformation granulaire ou **granulose** est en progrès marqué : la proportion des granules atteint 50 % environ du nombre total des éléments bactériens en suspension dans le sang. Un certain nombre de ces granules sont en voie de lyse et se présentent sous l'aspect de points à peine perceptibles ou de minuscules granules. Le nombre des Coccobacilles normaux et encapsulés est notablement moins élevé qu'au moment de la dernière observation.

Outre les granules simples, on observe aussi sur les frottis colorés au Giemsa la présence de taches teintées de rose, à contours mal définis

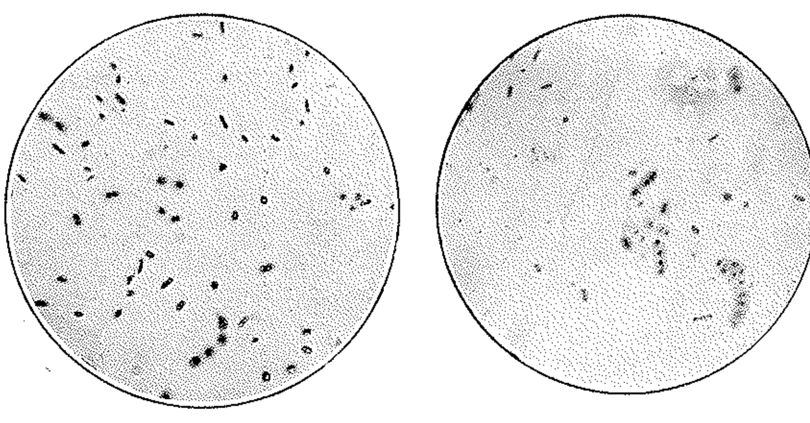


Fig. 128. Fig. 129.

**Fig. 128 et 129. — Réaction humorale dans le sang de chenille d'A. segetum après injection de B. melolonthae n. liquefaciens ε. 128, Bacilles encapsulés avant la transformation en granules. 129, Transformation des Bacilles en granules à l'intérieur des capsules.**

et à l'intérieur desquelles on distingue plus ou moins nettement un minuscule point coloré : ce sont les restes des capsules et des granules qu'elles enveloppent.

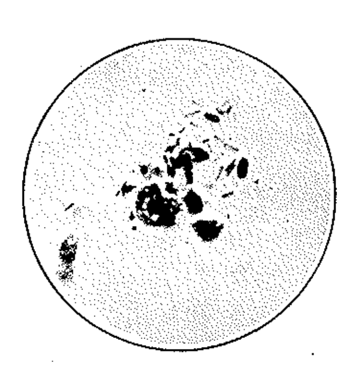


**Fig. 130. — Phagocytose de capsules et de Bacilles normaux par un micronucléocyte.**

La réaction de phagocytose est très nettement plus intense que pendant les premières heures qui suivent l'inoculation. Dans le cytoplasme des micronucléocytes, on observe à la fois : des Coccobacilles normaux, des Bacilles encapsulés et des granules (Fig. 130). La proportion des deux premiers éléments est sensiblement la même que dans le sang, ce qui semble prouver que la capsule n'est pas plus un obstacle à la pénétration intracellulaire qu'elle n'en est un à l'action bactériolytique du sang. La proportion des granules intraprotoplasmiques est nettement plus élevée que dans le sang. Ces constatations montrent,



au moins dans le cas qui nous occupe, que l'intensité de la phagocytose est surtout fonction de l'action bactéricide du sang. Nous verrons, en étudiant les autres cas d'immunité, que cette observation est susceptible de généralisation.

A partir de la septième heure, la réaction humorale s'accentue très rapidement ; le nombre des Bacilles libres et des granules diminue considérablement jusque sept heures et demie après l'inoculation ; à ce moment, il semble que la réaction subisse un temps d'arrêt.

Sept heures trois-quarts après l'inoculation, la proportion des Bacilles est nettement supérieure à celle des granules, puis la réaction reprend de nouveau et la proportion se renverse complètement.

Après huit heures trois-quarts, la réaction peut être considérée comme terminée. Dans les micronucléocytes, on observe à la fois des Bacilles, des granules et des Bacilles encapsulés, mais ces derniers, en très petit nombre. La présence de Bacilles normaux dans les cellules, alors que toute trace de Bacilles dans le sang a disparu, semble bien indiquer que le pouvoir bactériolytique du sang n'a pas pour origine un ferment cellulaire élaboré par les micronucléocytes.

Dans la plupart des expériences d'infection que j'ai faites avec **B. melolonthæ non liquefaciens** ε, le processus général des réactions d'immunité se ramène sensiblement au type que je viens de décrire. Les principaux changements observés ont trait à la durée de la réaction qui varie suivant la quantité de Bacilles injectée, suivant la température et, semble-t-il, suivant d'autres facteurs vitaux indéterminés qui changent avec chaque individu et qui constituent, peut-on dire, la personnalité de chacun d'eux.

Il arrive parfois, lorsque la quantité de Bacilles inoculés est considérable ou que ceux-ci sont pris dans une culture très jeune, ou encore lorsque la chenille est en état de moindre résistance, que l'infection triomphe des réactions de défense et se généralise rapidement pour aboutir à une septicémie mortelle. L'expérience suivante réalise un de ces cas exceptionnels :

Une chenille d'**A. segetum** est inoculée le 19 décembre avec une émulsion microbienne provenant d'une culture sur gélose de 13 jours et maintenue tout le temps de l'expérience à l'étuve à 25° C. Après six heures et demie, on observe que les Bacilles libres sont assez nombreux dans le sang mais qu'un très petit nombre a subi l'action bactériolytique du sang. La proportion des Bacilles encapsulés est de 10 % environ.

Après dix-huit heures, les Bacilles libres sont très nombreux dans le sang ; la proportion des Bacilles encapsulés est plus faible, mais leur nombre est sensiblement le même que six heures et demie après l'inoculation. Les granules ne se rencontrent que dans les micronucléocytes et encore, en très petit nombre. La chenille succombe vingt-quatre heures après l'inoculation.

Il peut arriver que les réactions humorales se manifestent avec une intensité plus grande que dans l'expérience précédente ; l'infection ne progresse alors que très lentement ; c'est ce qu'on observe dans l'expérience suivante :

Une chenille d'**A. segetum** est inoculée le 5 décembre avec une émulsion de Bacilles provenant d'une culture jeune ; elle est maintenue tout le temps de l'expérience à la température de 27°. Après six heures, on observe de nombreux Bacilles libres dans le sang présentant les caractères de microbes en voie de multiplication active, mais seulement une proportion insignifiante de granules. Une partie des Bacilles sont encapsulés.

Après sept heures, l'infection est en progrès, mais la proportion des granules est aussi sensiblement augmentée. Dans la plupart des micronucléocytes, on observe la présence de nombreux microbes normaux et granules, ces derniers, toujours en proportion plus élevée que dans le sang.

L'aspect général du sang varie peu par la suite. Les frottis de sang faits huit heures, huit heures et demie, dix heures après l'inoculation, ne présentent que des différences de détail sans importance.

Après dix-huit heures, on observe toujours de nombreux Bacilles libres, mais les progrès de l'infection sont peu appréciables. La proportion des granules est plus élevée que la veille ; on n'observe pas, comme dans le sang des chenilles où la réaction de bactériolyse est complète, la présence de granules minuscules.

Vingt-quatre heures après l'inoculation, l'infection est stationnaire; mes observations s'arrêtent à ce moment car une infection secondaire se déclare par la suite qui masque rapidement l'infection initiale.

On ne peut mettre en doute le caractère essentiellement humoral des réactions dont le processus vient d'être décrit. A aucun moment, la phagocytose n'apparaît comme jouant un rôle décisif ; c'est au contraire une réaction d'ordre très secondaire qui ne prend de valeur appréciable qu'au moment où les Bacilles commencent à subir l'influence



bactéricide du sang et encore est-il juste de faire observer que l'englobement des Bacilles a surtout pour effet de les soustraire à cette action bactéricide. Les microbes englobés sont peu à peu digérés, mais l'action digestive des ferments micronucléocytaires est sans rapport avec l'action bactériolytique du sang.

Le rôle de protection joué par les phagocytes vis à vis certains microbes a été mis en évidence par Rous et Jones. Ces auteurs ont montré que beaucoup de microbes pathogènes pour l'Homme, par exemple les Bacilles de la tuberculose, de la lèpre, le Gonocoque, paraissent échapper à l'influence destructive du sang grâce à leur vie intracellulaire. Le rôle de protection est intimément associé à la vie cellulaire ; lorsque les cellules ont perdu leur vitalité, les microbes englobés ne sont plus protégés. Pour Rous et Jones, les phénomènes de protection expliqueraient l'impossibilité des agents thérapeutiques à atteindre certains microbes englobés, celui de la lèpre par exemple. Enfin le leucocyte peut jouer aussi le rôle de vecteur et devenir la cause directe de l'apparition de nouveaux foyers d'infection dans l'organisme.

## IMMUNITÉ ACQUISE

Lorsqu'une chenille a résisté à une première inoculation de Bacilles et qu'elle les a fait entièrement disparaître du sang, elle est capable de réagir immédiatement après une nouvelle inoculation : elle est en état d'immunité acquise. C'est le premier exemple d'immunité acquise qui ait été observé chez les Insectes. L'expérience suivante montre que le nouveau processus réactionnel ne diffère du précédent que par la rapidité beaucoup plus grande de la transformation en granules et de la bactériolyse subséquente.

Une chenille d'**A. pronubana** est inoculée le 3 décembre avec une émulsion de Bacilles provenant d'une culture jeune sur gélose ; elle est maintenue tout le temps de l'expérience à la température de 24°C ; trente-huit heures après, elle est réinoculée avec une émulsion de même origine.

Examiné cinq minutes après l'inoculation, le sang présente l'aspect suivant : Bacilles libres très nombreux ; quelques uns déjà transformés en granules. Réaction de caryocinétose très intense caractérisée par l'abondance des prophases et métaphases.

Après dix minutes, la granulose a fait peu de progrès, mais les Bacilles ont changé d'aspect ; la plupart se présentent avec une capsule faiblement colorée à bords plus ou moins irréguliers. Les granules encapsulés sont entourés d'une auréole rose. Quelques Bacilles sont entourés d'une capsule fortement colorée et à contours réguliers.

Après trente minutes, la granulose est intense ; les capsules colorées sont généralement peu visibles ; la bactériolyse des granules est rapide et générale. La réaction est complètement terminée une heure après la réinoculation. Dans beaucoup de cas, elle se termine bien avant ce moment.

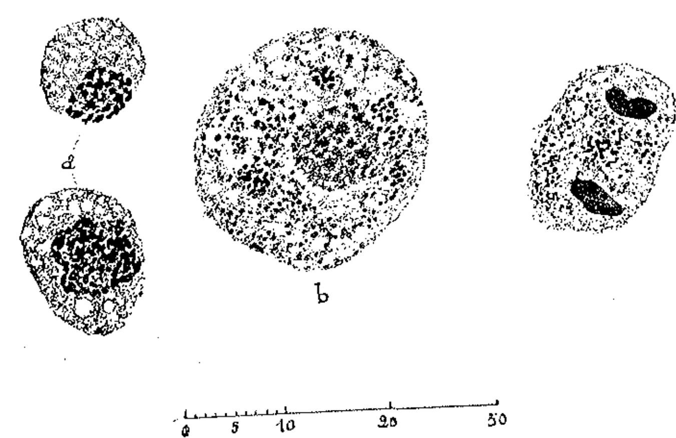



Fig. 131. — Micronucléocytes de chenille d'**A. segetum** 2 minutes après l'inoculation avec **B. melolonthae n. liquefaciens** ε (septième inoculation). a: éléments normaux; b: micronucléocyte hypertrophié.

La réinoculation des chenilles d'**A. segetum** immunisées contre le Bacille du Hanneton donne lieu au même processus réactionnel que celui qui se déroule dans le sang des chenilles d'**A. pronubana**. Sa durée est toutefois un peu plus longue. Dans la généralité des cas étudiés, la durée totale de la réaction, après une première inoculation, est comprise entre trente et quarante-cinq minutes.

L'état d'immunité des chenilles n'est pas sensiblement modifié à la suite de plusieurs inoculations successives ; l'introduction de nouveaux Bacilles dans la cavité générale des chenilles aussitôt après la disparition des derniers granules, donne lieu au même processus réactionnel que celui qu'on observe après la première réinoculation. Dans un cas, une même chenille d'**A. segetum** a été inoculée et réinoculée sept fois consécutivement en l'espace de six jours. Chaque fois, l'étude des processus réactionnels a abouti aux mêmes résultats.



**In vitro**, le sang des chenilles en état d'immunité bactériolyse les Bacilles dans les mêmes conditions qu'**in vivo**.

D'autres cas d'immunité acquise ont été étudiés par la suite chez les Insectes : Metalnikov, par exemple, a montré que les chenilles de **Galleria mellonella** inoculées avec cultures atténuées de Vibrion cholérique s'immunisent rapidement contre les cultures virulentes du même Vibrion ; cet auteur a montré d'autre part qu'on pouvait immuniser très facilement les mêmes chenilles contre divers Bacilles pathogènes de l'Homme par injection de vieilles cultures ou de cultures chauffées à 58°. En inoculant à des chenilles de **Galleria** des cultures chauffées de différents Bacilles (Bacille de Danysz, Bacilles paratyphiques, Bacilles dysentériques, Vibrion du choléra, Vibrion de Metchnikoff et Bacilles de **Pyrausta nubilalis** n° 4), Zernoff a constaté la destruction extracellulaire des Bacilles après injection de cultures virulentes ; la destruction des Bacilles est attribuée à l'action d'une bactériolysine. Hollande et ses élèves Aghar et Vicher ont pu également vacciner des chenilles par injection préalable de cultures chauffées. Ces différents auteurs sont d'accord pour reconnaître que les processus d'immunisation diffèrent essentiellement de ceux qui se déroulent dans l'organisme des Vertébrés. La présence d'alexine, notamment, n'a pu être établie (Hollande).

## ÉTUDE DU MÉCANISME DE LA RÉACTION

Le sang des chenilles immunisées contre **B. melolonthæ non liquefaciens** ε se comporte vis à vis de ces microbes comme le sang ou le sérum de Vertébrés vis à vis certains microbes pathogènes contre lesquels ils ont été immunisés. On peut souligner par exemple l'analogie frappante entre la bactériolyse **in vitro** du Bacille du Hanneton par le sang des chenilles d'**Agrotis** immunisées contre ce Bacille et celle du Vibrion cholérique par le liquide péritonéal de Cobaye vacciné contre le Choléra. Mais l'identité des deux processus bactériolytiques n'est qu'apparente.

Nous avons vu que la théorie de Bordet expliquait la bactériolyse par la coopération de deux substances : l'une thermolabile, détruite par chauffage à 55° ; l'autre, thermostabile, résistant à un chauffage poussé

à 60-65° ; la première, disparaissant rapidement de l'immunsérum par vieillissement ; l'autre, se conservant indéfiniment. Le chauffage du sang de chenille d'**Agrotis** immunisée contre le Bacille du Hanneton a une toute autre action sur ses propriétés bactériolytiques. Si l'on chauffe ce sang une demi-heure à 55° et qu'on lui ajoute une goutte d'une émulsion de culture microbienne, on constate que la réaction de bactériolyse se déclenche et se poursuit dans les mêmes conditions et suivant le même processus que dans le sang non chauffé. Le chauffage à 60-65° ne détruit pas le pouvoir bactériolytique ; si l'on chauffe à cette température du sang de chenille en état d'immunité, il se prend en masse par coagulation de l'albumine ; en brisant le coagulum et centrifugeant, on recueille un peu de liquide clair dont le pouvoir bactériolytique n'est pas sensiblement inférieur à celui du sang non chauffé. Si l'on chauffe une demi-heure à 70-72° l'immunsang d'**Agrotis**, la partie claire recueillie après centrifugation est encore capable de bactériolyser les Bacilles, mais on constate que le pouvoir bactériolytique n'est pas aussi intense que celui du sang non chauffé. A partir de cette température, le sang perd rapidement ses propriétés bactériolytiques et vers 75°, celui-ci disparaît complètement. L'addition de sang frais non chauffé ne réactive pas l'immunsang chauffé.

### Effet du vieillissement.

Une chenille d'**A. segetum** est inoculée le 1<sup>er</sup> janvier à 11 heures avec une émulsion de Bacilles provenant d'une culture jeune ; le 3 janvier, à 13 heures, je prélève une certaine quantité de sang et je la répartis en trois tubes : deux ouverts, l'autre, scellé à la lampe ; tous trois sont placés à l'étuve à 24°.

Le 5 janvier, le sang de l'un des deux premiers tubes est additionné de microbes de culture. Après 15 minutes de séjour à l'étuve, on observe déjà un commencement de granulose ; mais ensuite, la réaction progresse lentement. Au bout de quatre heures, les Bacilles sont encore nombreux dans le sang et la proportion des granules est restée stationnaire. D'autre part, on peut constater que ces granules résistent à l'action lytique du sang et ne se transforment pas en granules plus petits.

Le sang des deux autres tubes est additionné, le 7 janvier à 13 h., de culture microbienne de quatre jours et replacé à l'étuve à 24°. Dans aucun de ces mélanges, on n'observe le moindre signe d'altération des microbes. L'addition de sang frais ne réactive pas celui qui a ainsi perdu



son pouvoir bactériolytique. Lorsque l'immunsang est conservé à température plus basse, il garde plus longtemps son pouvoir bactériolytique (neuf jours environ à la température de 12°).

On n'observe pas de différence notable au point de vue de la durée de conservation du pouvoir bactériolytique entre le sang laissé au contact de l'air et celui qui en est isolé. En ce qui concerne l'immunsérum des Vertébrés, il paraît établi, au contraire, que la disparition du pouvoir bactériolytique par vieillissement est due à l'action oxydante de l'oxygène de l'air. P. COURMONT et A. DUFOURT ont montré en effet que « si l'on agite mécaniquement un sérum pourvu d'alexine dans une étuve à 37° à l'air libre, l'alexine disparaît ; si on remplace l'air des flacons par de l'oxygène, la disparition est plus rapide ; si, au contraire, on fait le vide dans ces flacons ou si on remplace l'air par de l'hydrogène, l'agitation ne détruit pas l'alexine ».

L'action du vieillissement sur l'immunsang des chenilles semble donc bien se manifester de toute autre manière que sur l'immunsérum des Vertébrés ; la disparition du pouvoir bactériolytique ne résulte nullement d'une action oxydante de l'air. Les chenilles immunisées perdent leur immunité aussi rapidement que l'immunsang perd son pouvoir bactériolytique en tube scellé. Ces faits ont été confirmés depuis par d'autres auteurs.

En résumé, les deux faits d'expériences sur lesquels s'appuie BORDET pour édifier sa théorie dite des deux substances (action de la chaleur et du vieillissement) et expliquer le phénomène de la bactériolyse chez les Vertébrés, ne peuvent être invoquées pour expliquer le même phénomène chez les chenilles immunisées contre le Bacille du Hanneton. On est donc en droit de conclure que ce cas d'immunité constitue une exception à la théorie de BORDET et que la bactériolyse des microbes n'est pas due à la coopération de deux substances.

## HYPOTHÈSES SUR LE MÉCANISME DE LA RÉACTION HUMORALE

La première hypothèse qui semblerait devoir être adoptée est celle de l'action d'une seule substance assimilable aux diastases et d'origine leucocytaire. Cette hypothèse est assez conforme aux idées régnantes actuelles ; moi-même, j'ai admis tout d'abord, en étudiant la caryocinétose, que les macronucléocytes, qui participent seuls à la réaction,

devaient jouer un rôle actif dans l'élaboration des anticorps. Aujourd'hui, une telle opinion ne peut être soutenue ; mais avant de formuler l'hypothèse définitive à laquelle je me suis rallié, il est nécessaire de donner les raisons qui me font rejeter celle de l'action d'une seule substance particulière ou diastase ; les expériences sur lesquelles je baserai ma démonstration serviront d'ailleurs à étayer l'hypothèse définitive.

**Première expérience.** — 1° Après avoir émulsionné dans une goutte de sang de chenille d'**A. segetum** une parcelle de culture sur gélose de 4 jours, j'aspire un peu de cette émulsion dans un tube fin ; avec le même tube, je prélève directement dans la cavité générale de la chenille une quantité de sang dix fois plus grande ; je réalise ainsi un mélange de sang complet et de Bacilles. La partie effilée du tube est fermée à la lampe ; la partie supérieure de la colonne de sang est isolée de l'air par une mince couche d'huile de vaseline.

2° Un deuxième tube est rempli comme il vient d'être expliqué, mais la colonne sanguine n'est pas isolée de l'air par une couche de vaseline.

3° Une troisième portion de sang est centrifugée pour séparer les éléments cellulaires du plasma ; la partie claire est ensuite aspirée en tube fin et additionnée d'une émulsion de Bacilles de culture. Les trois tubes ainsi préparés sont placés à l'étuve à 24°.

Dans les trois tubes, la granulose commence au bout de quelques heures mais ne se généralise pas ; les Bacilles se développent mal, aussi bien dans le plasma que dans le sang complet. On peut donc conclure que ce milieu n'est pas favorable à la culture du Bacille et qu'il possède vis à vis de ce dernier une certaine action bactéricide.

**Deuxième expérience.** — Le 9 décembre, je prélève en tube fin une certaine quantité de sang dans la cavité générale d'une chenille d'**Agrotis** et lui ajoute une goutte d'une émulsion de culture jeune sur gélose ; le tube est ensuite placé à l'étuve à 24°.

2° Un autre tube est préparé de la même manière, mais la chenille reçoit avant le prélèvement une injection d'eau physiologique ;

3° Une certaine quantité de sang toujours prélevée dans la cavité générale de la même chenille, est centrifugée ; la partie claire est aspirée en tube fin puis infectée.

Après sept heures, les Bacilles libres sont peu nombreux dans le premier tube et paraissent végéter ; ils sont petits et minces ; on n'observe ni granule ni Bacille encapsulé. Dans les deux autres tubes, l'aspect est sensiblement le même. Après neuf heures, progrès sensible dans la multiplication des Bacilles qui deviennent plus gros et plus allongés.

Après vingt-et-une heures, on observe dans le premier tube des indices très nets de réaction bactériolytique (présence de minuscules granules et régression du nombre des Bacilles). La réaction s'accentue par la suite et trente heures après le début de l'expérience, on n'observe plus dans le sang qu'un très petit nombre de Bacilles normaux et quelques granules.

Dans le sang du deuxième tube, après vingt-et-une heures, on observe la présence de nombreux granules dont un certain nombre sont en voie de bactériolyse ; les Bacilles normaux sont relativement rares ; quelques uns sont encapsulés. La réaction est très avancée au bout de trente heures.

La réaction se poursuit sensiblement dans les mêmes conditions dans le sang centrifugé du troisième tube.

On est donc en droit de conclure de cette expérience à une action bactéricide du sang de chenille d'**A. segetum** sur le Bacille du Hanneton. Le processus bactériolytique diffère de celui qu'on observe **in vivo** par la durée plus grande de la réaction et par sa plus faible intensité. Je ne mentionnerai pas ici toutes les expériences du même type qui ont été faites pour démontrer l'existence **in vitro** d'une réaction humorale analogue à celle qui se produit dans l'organisme des chenilles vivantes ; elles aboutissent toutes à des résultats analogues ; les seules différences constatées ont trait à la durée et à l'étendue de la réaction.

Puisque les microbes peuvent être transformés en granules puis lysés dans le sang dépourvu de cellules comme dans le sang complet, il semble qu'on soit en droit de conclure que l'action bactéricide du sang d'**Agrotis** est indépendante de l'activité cellulaire. On peut rapprocher cette action bactéricide de l'action du sérum de Rat blanc sur la Bactéridie charbonneuse ; mais alors qu'on a pu démontrer que l'immunité du Rat blanc était indépendante de l'action bactéricide du sérum (le sang complet n'est pas bactéricide), celle des chenilles d'**Agrotis** pour le **B. melolonthæ n. liquefaciens** ε apparaît au contraire étroitement liée à l'action bactéricide du sang.

La réaction complète pourrait être assimilée à l'action d'une diastase préexistant dans le sang ; mais dans cette hypothèse, on n'expliquerait pas que les microbes puissent se multiplier activement avant de subir

cette action diastasique alors que cette action est presque instantanée dans le sang des chenilles immunisées.

On pourrait supposer aussi que le ferment bactériolytique se trouve normalement dans les éléments du sang, par exemple, dans les macronucléocytes ou les micronucléocytes et qu'il passe dans le sang au moment de la phagolyse de certains d'entre eux, phagolyse qui, comme nous l'avons vu, est consécutive à l'injection. On sait que METCHNIKOFF a expliqué de cette manière le mécanisme de l'action bactéricide ou cytolytique de certains sérums (mise en liberté de micro- ou macrocytase par phagolyse des polynucléaires ou des mononucléaires). Mais alors on devrait constater des différences très sensibles dans la marche et l'intensité de la réaction suivant la manière dont l'injection est faite ou dont le sang a été prélevé et conservé. Si l'on prélève par exemple le sang en pipette paraffinée pour éviter le contact avec le verre, qu'on l'isole de l'air dès sa sortie par interposition d'une goutte d'huile de vaseline avant le prélèvement, il est évident que le sang ainsi recueilli renfermera moins d'éléments altérés que celui qui est prélevé sans aucune précaution. Or je n'ai jamais constaté que la bactériolyse fût plus rapide et plus complète dans les tubes paraffinés que dans les tubes ordinaires.

L'existence de la réaction bactériolytique dans le sang centrifugé ne constitue pas une preuve absolue en faveur de la non-participation des cellules à la réaction : en effet, la centrifugation lèse un plus ou moins grand nombre de cellules ce qui détermine la mise en liberté, dans le plasma, des ferments qui pourraient exister dans ces cellules. Mais on n'observe pas que le culot de centrifugation, surtout composé de cellules, détruise plus rapidement et plus complètement les Bacilles que la partie claire dépourvue de cellules.

L'hypothèse de l'action d'une diastase cellulaire ne pouvant être retenue, il ne reste à envisager que l'action directe du plasma sur les microbes ou mieux, celle du plasma modifié chimiquement et physicochimiquement à la suite de l'injection, sur les Bacilles modifiés euxmêmes par développement dans un milieu de nature spéciale. Cette action ne se manifeste pas toujours par la transformation des Bacilles en granules suivie de lyse. Les expériences suivantes montrent comment l'action bactéricide peut s'exercer **in vitro** :

**Première expérience.** — Le 19 janvier à 17 heures, je prélève une certaine quantité de sang de chenille d'**Agrotis** et le centrifuge aussitôt; la partie claire est ensemencée largement avec Bacilles d'une culture sur gélose de trois jours puis abandonnée à l'étuve à 24°.

Le 20 janvier, à 17 heures 10, une chenille neuve est inoculée avec une goutte de plasma infecté. Au moment de l'injection, le plasma infecté tient en suspension de nombreux éléments coccobacillaires de grande taille et d'apparence normale; on rencontre aussi quelques granules mais en très petit nombre. Dix minutes après l'inoculation, la granulose est déjà intense. Après quarante minutes, la plupart des Bacilles et granules ont disparu et la réaction peut être considérée comme terminée au bout d'une heure.

**Deuxième expérience.** — Le 22 janvier, à 9 heures 20, une nouvelle chenille est inoculée avec le sang complet prélevé et ensemencé le 19 janvier. Dès les premières minutes, de nombreux Bacilles se transforment en granules ; après dix minutes, leur nombre est très diminué ; après quarante minutes, les granules sont encore assez nombreux dans le sang mais les Bacilles non modifiés sont rares. La réaction n'est complètement terminée que trois heures environ après l'injection.

**Troisième expérience.** — Le 24 janvier, à 11 heures 5, le sang d'une chenille d'**Agrotis segetum** est centrifugé aussitôt après son prélèvement ; la partie claire est ensemencée largement avec une culture de deux jours ; le fond du tube de centrifugation, riche en éléments cellulaires, est ensemencé de même ; les deux tubes sont placés à l'étuve à 24°. Le même jour à 17 heures 40, une chenille neuve est inoculée avec une goutte du plasma riche en éléments bacillaires. Après quinze minutes, on rencontre surtout des granules dans le sang ; un certain nombre sont en voie de bactériolyse ; après 30 minutes, le nombre des Bacilles et des granules est en diminution très nette ; la réaction est à peu près terminée une heure après l'inoculation.

Une autre chenille inoculée avec le fond du tube de centrifugation réagit de la même manière que la précédente.

A 19 heures, la première chenille est réinoculée avec une émulsion de Bacilles d'une culture jeune sur gélose. Après 10 minutes, la granulose est intense. Après 45 minutes, le sang ne renferme plus qu'un très petit nombre de Bacilles et granules ; la réaction est à peu près terminée au bout d'une heure.

**Quatrième expérience.** — Le 24 janvier, je prélève du sang d'**Agrotis** et l'ensemence largement avec Bacilles d'une culture jeune sur gé-

lose. Après 48 heures de séjour à l'étuve à 24°, j'inocule une goutte de ce sang, riche en Bacilles, dans la cavité générale d'une chenille neuve ayant séjourné quelques minutes à l'étuve. Les granules se forment vers la dixième minute et une heure après l'inoculation, la réaction peut être considérée comme terminée. A ce moment, je réinocule la chenille avec une émulsion concentrée de Bacilles provenant d'une culture de 24 heures. Comme dans l'expérience précédente, la granulose s'établit rapidement et se généralise ; une heure après l'inoculation, la réaction est très avancée.

De nombreuses expériences du même type ont été faites et toujours les mêmes résultats ont été enregistrés. On peut donc conclure :

1° Que des Bacilles ayant végété quelque temps dans le sang de chenille d'**Agrotis segetum**, à la température de 24°, n'ont plus les mêmes propriétés vitales que les Bacilles de culture, bien que leur forme ne soit pas sensiblement modifiée ; autrement dit, l'action bactéricide du sang peut se manifester par une modification chimique ou physico-chimique de la substance bactérienne et non par un changement de forme des microbes ;

2° Que ces Bacilles ainsi modifiés se comportent dans la cavité générale des chenilles neuves comme des Bacilles de culture dans le sang des chenilles en état d'immunité acquise ;

3° Que l'injection, à une chenille neuve, de Bacilles cultivés dans le sang confère l'état d'immunité à cette même chenille ; on peut de la sorte immuniser une chenille en un temps extrêmement court et par un procédé dont on ne connaît pas d'exemple chez les Vertébrés.

Ces conclusions, d'une importance considérable pour l'étude du mécanisme des processus immunitaires chez les Invertébrés, ne paraissent pas avoir attiré l'attention de ceux qui font des recherches dans cette voie. Peut-être sont-elles passés inaperçues ou a-t-on jugé qu'elles n'avaient aucune portée générale.

La rapidité d'immunisation des Insectes qui ressort nettement de toutes mes expériences a été mise en évidence par METALNIKOV et ses élèves chez la chenille de **Galleria mellonella** ; il eût été intéressant de vérifier si les conclusions énoncées plus haut s'appliquaient aux cas étudiés par eux.

Je me suis posé la question de savoir suivant quel mécanisme s'exerçait l'action bactéricide du sang **in vitro** (le mot bactéricide est pris ici dans son sens le plus large). Il paraît logique d'admettre que cette action



est comparable à celle exercée par différents agents physiques. (On sait par exemple que l'action prolongée de la chaleur ou celle d'antiseptiques divers sur la Bactéridie du charbon détermine une modification durable de la virulence de ce parasite : on obtient ainsi des races capables de vacciner les animaux réceptifs contre le Bacille virulent). Mais le processus de cette action bactéricide et la nature exacte des modifications subies par les Bacilles dans le sang de la chenille nous échappent.

Suivant la quantité de Bacilles en contact avec un volume déterminé de sang de chenilles neuves, l'action bactéricide est complète ou seulement partielle ; dans le premier cas, tous les éléments bacillaires sont rapidement transformés en granules, puis, lysés ; dans l'autre cas, les Bacilles ne sont pas tous altérés au même degré et la transformation en granules s'échelonne sur une période plus ou moins longue ; d'autre part, la lyse des granules ne suit pas immédiatement ; aussi la réaction peut-elle se prolonger plusieurs heures.

L'hypothèse admise pour expliquer le mécanisme de l'action bactéricide du sang d'**Agrotis** sur le **B. melolonthæ non liquefaciens** ε est aussi valable pour les réactions qui ont pour siège le sang circulant. Granulose et bactériolyse nous apparaissent comme les dernières phases d'une série de réactions colloïdales entre les Bactéries ou leurs sécrétions et certains complexes du sang. Ces réactions modifient plus ou moins profondément la nature des uns et des autres ; si l'on admet que le microbe est en équilibre instable dans le nouveau milieu ; il suffira d'un changement insensible dans la composition du sang, de l'addition par exemple d'un électrolyte normalement présent dans le sang vivant, pour rompre l'état d'équilibre et déclencher les phases ultimes de la réaction humorale (granulose et bactériolyse). Le sang circulant est beaucoup plus actif que le sang de prélèvement, peut-être en raison de l'action oxydante de l'oxygène de l'air sur le ou les éléments actifs de ce dernier.

Une preuve des changements survenus dans la composition physico-chimique du sang à la suite de l'inoculation ou du mélange **in vitro** des Bacilles et du sang, nous est donnée par l'examen sur fond noir : dans le sang normal examiné de cette manière on n'observe qu'un petit nombre de corpuscules animés de mouvements browniens ; au contraire, dans le sang des chenilles immunisées ou du sang mélangé de Bacilles, on constate la présence d'innombrables corpuscules ultramicroscopiques disposés en général deux par deux ; ces corpuscules sont invi-

sibles à l'éclairage ordinaire et ne peuvent être mis en évidence sur frottis colorés. On les retrouve dans la partie claire du sang de chenille immunisée après chauffage à température inférieure à 72-75°. Leur présence dans le sang apparaît donc liée à l'action bactériolytique.

## INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LE MÉCANISME DE LA RÉACTION HUMORALE

Toutes les expériences qui viennent d'être décrites ont été faites à une température voisine de 24° C ; lorsque les chenilles inoculées sont maintenues à température plus élevée, le processus réactionnel est sensiblement le même qu'à 24° ; toutefois, lorsque la température dépasse 30°, il arrive assez souvent que l'infection triomphe des réactions de défense et détermine la mort des chenilles par septicémie. Quand les chenilles sont placées à température voisine de 10° ou à température plus basse, on n'observe pas de processus réactionnel autre que la phagocytose.

**Première expérience.** — Une chenille d'**A. segetum** est inoculée le 23 novembre, à 11 heures 40, avec une culture sur gélose de deux jours et maintenue à la température moyenne de 9°. Six heures après, les Bacilles libres sont assez nombreux dans le sang et leur forme est celle des Bacilles de culture ; la phagocytose est assez intense et la digestion intracellulaire des éléments bacillaires est relativement rapide. Jusqu'à la neuvième heure on ne constate pas de progrès sensible dans la marche de l'infection : la multiplication des Bacilles, fortement ralentie en raison de l'insuffisance de la température, est équilibrée par l'englobement phagocytaire.

Après vingt heures, les Bacilles libres sont beaucoup plus nombreux qu'au moment de l'observation précédente ; ils sont aussi sensiblement plus gros ; quelques-uns même ont les dimensions ordinaires des Bacilles qui se multiplient dans le sang à température favorable et déterminent la mort par infection généralisée. Les micronucléocytes sont bourrés de microbes en voie de digestion rapide ; on constate la présence de quelques Bacilles encapsulés dont un certain nombre sont englobés par les micronucléocytes.

Après vingt-cinq heures, le nombre des Bacilles libres est en augmentation sensible et la proportion des Bacilles encapsulés est nettement plus élevée qu'au moment de l'observation précédente.



Après vingt-neuf heures et demie, l'infection progresse toujours, bien que la phagocytose soit très intense ; on n'observe toujours aucun signe de réaction humorale (Fig. 132, **a**). A ce moment, c'est-à-dire le 24 novembre, à 17 heures 1/4, la chenille est placée à l'étuve à 24°.

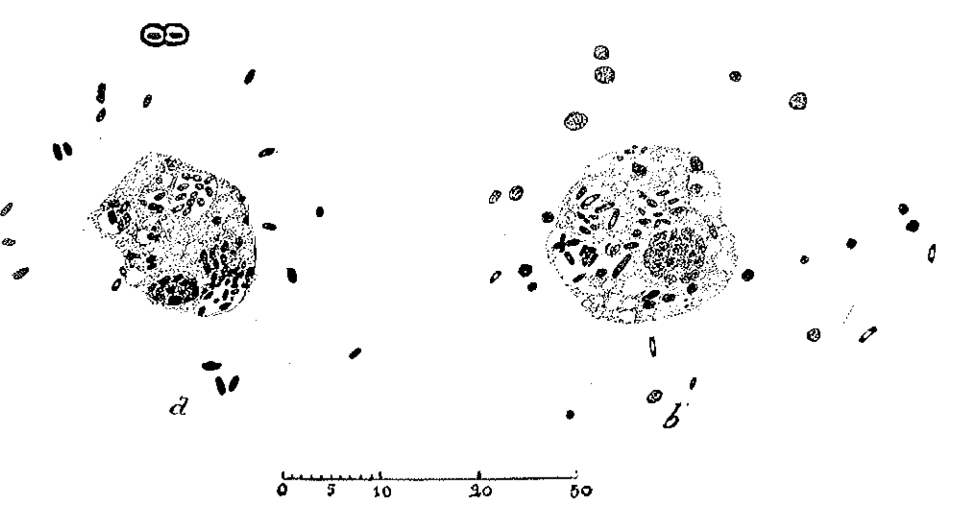



**Fig. 132.** — Sang de chenille d'**A. segetum** infestée par **B melolonthae non liquefaciens** ε ; **a**, 29 h. 1/2 après l'inoculation (température 9°C) ; **b**, 3 h. 1/2 après la mise à l'étuve à 24°.

Vingt minutes après, l'aspect du sang infecté est sensiblement le même qu'au moment de la mise à l'étuve. Après une heure, la granulose commence ; après deux heures, les Bacilles libres sont très nombreux dans le sang ; ils sont nettement plus gros que ceux examinés vingt minutes après l'inoculation ; le nombre des Bacilles encapsulés est en augmentation sensible ; celui des granules ne paraît pas avoir augmenté ; après trois heures, la granulose tend à se généraliser : plus de la moitié des Bacilles sont déjà transformés en granules ; ceux-ci, sur frottis colorés au Giemsa apparaissent fortement colorés en bleu foncé ; quelques-uns sont en voie de grossissement et perdent peu à peu leur colorabilité.

Après trois heures trois-quarts, on n'observe plus de Bacilles dans le sang, mais seulement des masses de grosseur variable dont les plus grosses sont teintées en bleu très pâle par le Giemsa et présentent des

contours indécis (Fig. 132, **b**) ; quelques-unes sont teintées en rose pâle dans la partie centrale et présentent une certaine analogie avec les masses microbiennes dont nous avons étudié la structure précédemment.

La réaction peut être considérée comme terminée quatre heures et demie après la mise à l'étuve.

**Deuxième expérience.** — Le 8 mars, à 15 heures, une chenille d'**Agrotis** est inoculée avec une culture de Bacille ε du Hanneton de un mois ; jusqu'au 10 mars, la chenille est maintenue à la température moyenne de 5°. A 9 heures 3/4, elle est placée à l'étuve à 24°. Après une heure et demie, les Bacilles libres sont nombreux dans le sang ; une certaine proportion d'entre eux sont encapsulés ; le plus grand nombre sont constitués par des Coccobacilles normaux ; la phagocytose est d'intensité moyenne. Jusqu'à la troisième heure, on n'observe pas de changement dans la marche de l'infection ; à partir de ce moment, la granulose s'établit et se généralise rapidement. Après trois heures et demie, on constate déjà la présence de gros granules et même de masses de grosseur moyenne (2 μ de diamètre environ). La phagocytose devient plus active.

Après cinq heures, la proportion des masses ayant atteint leur grosseur maximum et des masses de moyenne grosseur dépasse très sensiblement celle des granules ; la proportion des Bacilles non transformés n'a ni augmenté ni diminué. Après six heures, diminution très sensible du nombre des masses et granules et du nombre des Bacilles. Après six heures et demie, l'aspect du sang est le suivant : beaucoup de grosses masses en voie de disparition ; peu de granules ; quelques Bacilles libres normaux et encapsulés.

Après sept heures et demie, le sang ne renferme plus que de très rares éléments bacillaires mais encore un certain nombre de masses grosses et moyennes ; à ce moment, la chenille est placée de nouveau à la température de 5°.

Le lendemain à 8 heures, c'est-à-dire 13 heures après le dernier examen, l'aspect du sang est sensiblement le même que la veille ; l'abaissement de la température a donc eu pour effet de suspendre la réaction.

La chenille étant de nouveau placée à l'étuve, la réaction reprend et à 10 heures, le sang ne renferme plus ni granules ni masses.



**Troisième expérience.** — Le 8 mars, à 15 heures, une chenille d'**A. segetum** est inoculée avec une culture de un mois et placée à la tem-

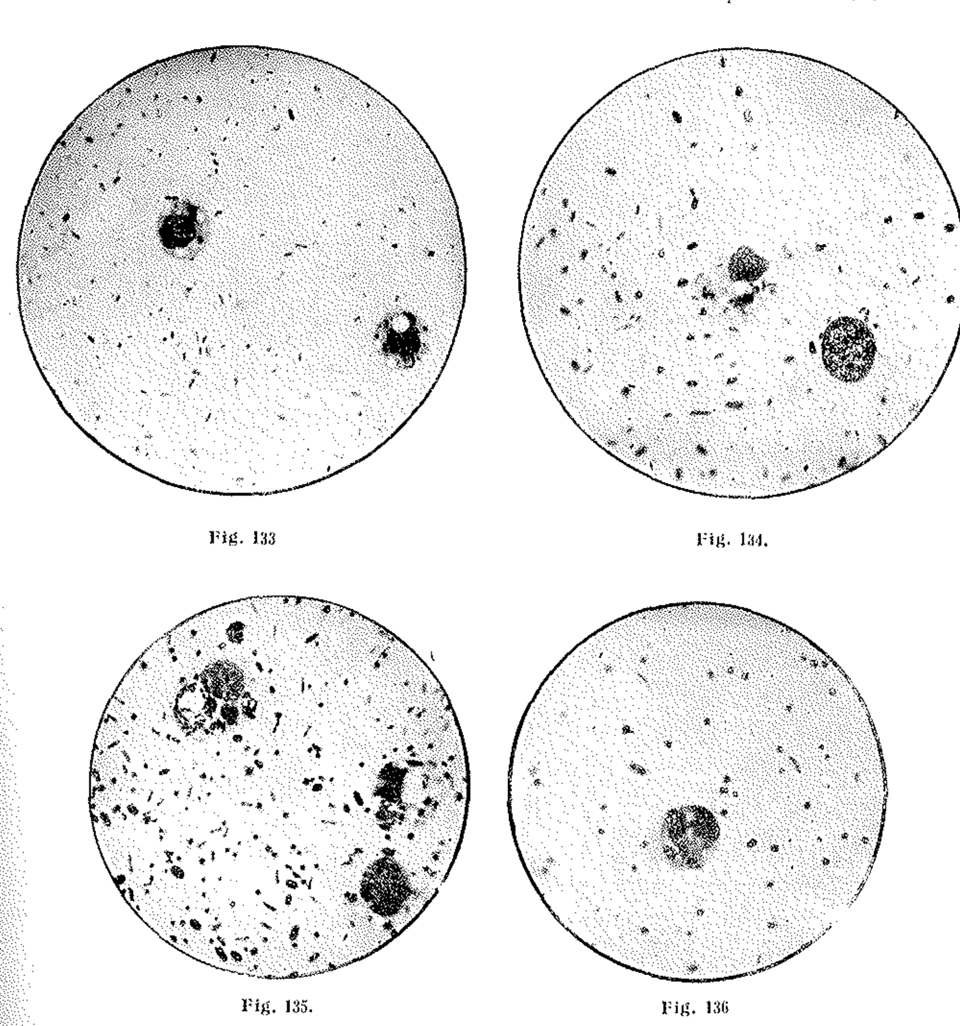


Fig. 133 Fig. 134. Fig. 135. Fig. 136

Fig. 133-138. — Différentes phases du processus réactionnel humoral chez une chenille d'**A segetum** inoculée avec **B. melolonthae n. liquefaciens** ε et maintenue 24 heures à la température de 5° C puis placée à l'étuve à 24° C. — 133, aspect du sang au moment de la mise à l'étuve ; 134, même sang après 40 minutes ; 135, après 3 heures ; 136, après 3 h. 1/2.

pérature de 5° pendant un jour ; le 9 mars à 14 heures 1/4, elle est mise à l'étuve à 24°. Les Bacilles libres, nombreux dans le sang, com-

mencent de grossir entre 20 et 40 minutes après le moment de la mise à l'étuve ; les capsules apparaissent vers la quarantième minute ; la proportion des Bacilles encapsulés atteint son maximum vers 15 h. 3/4 ; elle ne sera pas dépassée par la suite.

Jusqu'à 18 heures 1/2, la proportion des granules en suspension dans le sang est insignifiante ; la granulose ne commence effectivement que cinq heures et demie après la mise à l'étuve ; on observe en même temps une recrudescence très nette de la phagocytose. Le nombre des Bacilles normaux est encore relativement élevé.

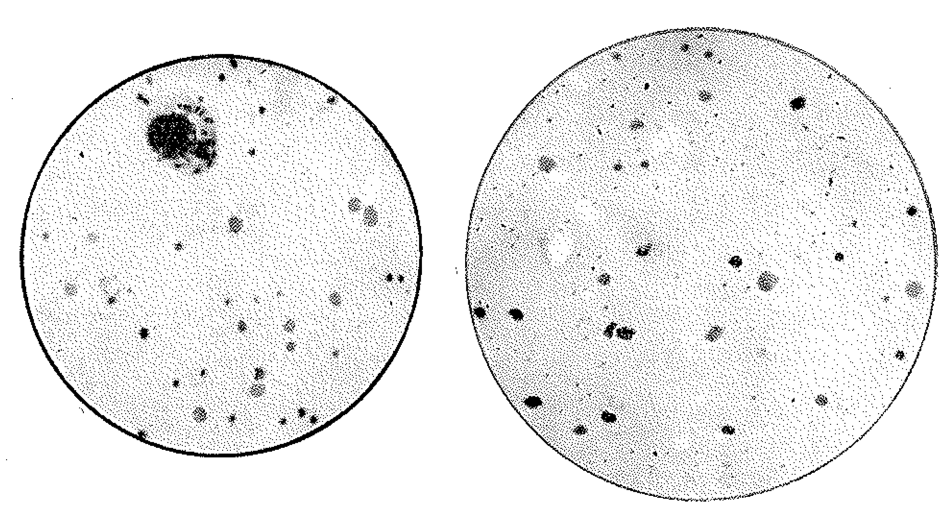


Fig. 137. — Après 4 heures. Fig. 138. — Après 5 heures.

Après six heures et demie, la proportion des granules est sensiblement la même que précédemment mais beaucoup de ceux-ci ont augmenté de volume ; quelques-uns même sont près d'atteindre leur grosseur maxima. A ce moment, la chenille est replacée à la température de 5°. Le lendemain à 8 heures, elle est remise à l'étuve ; le sang, examiné à ce moment, présente l'aspect suivant : nombre de Coccobacilles normaux toujours aussi grand que la veille ; proportion de granules diminuée mais celle des masses de moyenne grosseur et de grosseur maximum en augmentation sensible. Il semble donc que l'abaissement de température a eu pour effet de suspendre la granulose sans arrêter le grossissement des granules ; mais ce grossissement est beaucoup moins rapide qu'à la température de l'étuve.



Aussitôt après la mise à l'étuve, on constate que les Bacilles se transforment très rapidement en granules. Déjà après vingt minutes, la plupart d'entre eux ont subi cette transformation. Après une heure le sang ne renferme plus qu'un nombre relativement faible de grosses masses ; la réaction n'est complètement terminée que trois heures environ après la mise à l'étuve.

**Quatrième expérience.** — Une chenille d'**Agrotis** est inoculée le 24 février à 17 heures 1/2 avec une culture de 17 jours et soumise, un jour environ, à la température extérieure oscillant entre +9 et +1° C. Le 25 février à 16 heures 20, la chenille est placée à l'étuve. Le sang examiné à ce moment présente l'aspect suivant : nombreux Bacilles libres de petite taille ; pas de granules; faibles proportions de Bacilles encapsulés; phagocytose assez intense s'exerçant aussi bien sur les microbes encapsulés que sur les Bacilles normaux.

Après deux heures, les Bacilles normaux sont en augmentation ; leurs dimensions sont plus grandes qu'au moment de la mise à l'étuve ; les micronucléocytes renferment presque tous de nombreux microbes encapsulés ou non. Après deux heures et demie, les premiers granules apparaissent ; la proportion des Bacilles encapsulés est toujours sensiblement la même ; cette observation, rapprochée de celles que j'avais faites dans les expériences précédentes, permet de conclure à la constance du nombre des capsules pour une chenille déterminée ce qui semblerait indiquer que la capsule se forme aux dépens d'une substance particulière préformée dans le sang.

Quatre heures après la mise à l'étuve, le nombre des Bacilles est en augmentation sensible ; celui des granules est à peine augmenté ; on observe qu'une certaine proportion des micronucléocytes est en voie de destruction ; cette phagolyse a pour cause directe le trop grand nombre de Bacilles phagocytés. A partir de ce moment, la granulose se généralise rapidement ; à 21 heures la proportion des granules est de 30 % environ. A ce moment, la chenille est de nouveau soumise à l'action du froid (température de +5° environ).

A 8 heures le lendemain, la chenille est placée à l'étuve. Le sang examiné à ce moment présente l'aspect suivant : proportion des granules plus élevée que la veille (comprise entre 40 et 50 %) ; cette particularité s'explique par le fait que la chenille a été sortie de l'étuve au moment où s'établissait la granulose ; la réaction a donc pu continuer un certain

temps après cette sortie ; beaucoup de masses de moyenne grosseur ; phagocytose très active. La granulose reprend très activement ; déjà après une heure, on compte 90 % de granules ; le nombre des grosses masses est relativement faible. Après une heure un quart, proportion des granules non augmentée ; dans l'ensemble, accroissement marqué des dimensions des granules ; proportion assez forte de masses géantes dont quelques unes présentent une différenciation très nette dans leur partie centrale après coloration au Giemsa. Après une heure et demie, la proportion des Bacilles non transformés est de 10 % environ de l'ensemble des éléments microbiens transformés ou non ; la proportion des granules est très sensiblement inférieure à ce qu'elle était au moment de la dernière observation ; celle des grosses masses en voie de disparition est relativement importante. Dans les micronucléocytes, on constate la présence de nombreux Coccobacilles normaux.

Après deux heures, le sang renferme principalement des granules de petite taille et après deux heures et demie, surtout des masses moyennes et grosses dont beaucoup en voie de dégénérescence.

La réaction continue ensuite très lentement ; après six heures, on trouve encore quelques rares Bacilles non transformés et des granules et masses ; la réaction peut être considérée comme terminée sept heures après la mise à l'étuve. Cependant, en examinant le sang à 20 heures, c'est-à-dire 12 heures après la mise à l'étuve, je constate encore la présence de quelques Bacilles et masses géantes : ces éléments proviennent vraisemblablement de la destruction de micronucléocytes ; beaucoup de ces cellules apparaissent en effet bourrées de Bacilles non modifiés, de granules et même de quelques grosses masses ; on retrouve en outre, dans le sang, des débris de micronucléocytes détruits par ces éléments englobés en trop grande quantité.

### Conclusions sur l'action de la température.

L'influence de la température sur la marche de la réaction d'immunité, dans le sang des chenilles d'**A. segetum** contaminées par **B. melolonthæ non liquefaciens** ε, se manifeste par une modification complète du processus bactériolytique. La température de 12° C paraît être la limite extrême en-dessous de laquelle la réaction humorale ne peut se déclencher. Si la chenille est maintenue à température plus basse, les microbes peuvent encore se multiplier, bien que faiblement, mais aucun ne se transforme en granule. Est-ce à dire que le sang ne réagit pas contre les Bacilles ? Nous avons vu précédemment que les Bacilles en contact prolongé avec le sang, **in vitro**, devenaient plus aptes à subir l'action bactériolytique du sang circulant ; de même dans le cas du contact des Bacilles avec le sang circulant, à température relativement basse, il y a vraisemblablement action bactéricide incomplète en même temps que modification plus ou moins profonde du milieu sanguin ; ces altérations du microbe et du sang sont évidemment différentes de celles qui se produisent à température d'étuve dans le sang **in vitro**, puisque les granules, au lieu d'être rapidement bactériolysés, grossissent et se transforment en masses plus ou moins volumineuses. On peut juger par là de l'extrême complexité des réactions susceptibles de se produire dans le sang des chenilles après inoculation de Bacilles de culture ou d'autre origine.



Ce qui paraît le plus curieux dans l'action de la température et qui n'avait jamais été observé jusqu'ici, c'est le grossissement exagéré des granules aussitôt après leur formation. Tout se passe comme si la cellule bactérienne perdait son équilibre osmotique et qu'un échange actif de substances entre ces cellules et le milieu sanguin eût pour effet d'accroître démesurément leurs dimensions et d'identifier peu à peu leur substance avec celle du milieu environnant ; la diminution progressive de la colorabilité des masses (après action des colorants ordinaires) au fur et à mesure de leur grossissement, serait une preuve en faveur de cette hypothèse. Les granules en voie de grossissement semblent conserver pendant quelque temps leur vitalité : en effet, si on ensemence sur plaque de gélose, du sang de chenille une heure environ après la transformation des Bacilles en granules, on constate que de nombreuses colonies se développent tout le long de la strie, comme s'il s'agissait de sang fortement contaminé par des Bacilles normaux.

Si l'on admet que les transformations humorales des Bacilles ont pour cause un anticorps ou une diastase de nature particulière, on explique difficilement les modifications apportées dans le mécanisme des réactions par l'abaissement préalable de la température du corps de la chenille. Si l'on admet au contraire l'hypothèse que j'ai formulée précédemment, ces modifications s'expliquent plus aisément : en effet, l'équilibre colloïdal, dans les liquides organiques, varie avec la température ; témoin, l'expérience suivante : l'adjonction d'eau ordinaire ou distillée au sang de chenille d'**A. segetum** maintenue quelque temps à l'étuve à 24° détermine l'agglutination immédiate des éléments cellu-

laires, ce qui se traduit macroscopiquement par un trouble du liquide ; l'addition d'eau physiologique, c'est-à-dire de liquide isotonique, ne détermine aucun trouble. Si au lieu d'opérer avec du sang de chenille ayant séjourné à l'étuve, on emploie du sang de chenille maintenue à la température de 10°, on n'observe pas d'agglutination des éléments cellulaires après addition d'eau ordinaire. On ne peut expliquer que par un changement de l'équilibre colloïdal les variations de propriétés du sang avec la température.

Le changement de l'équilibre colloïdal avec la température a pour conséquence directe une modification correspondante de la substance microbienne ; les deux complexes colloïdaux en présence, sang et microbes, sont en état d'équilibre instable ; leur composition chimique varie constamment suivant la température, d'où modification plus ou moins profonde du processus réactionnel.

Article 2.

## IMMUNITÉ DES CHENILLES DE NOCTUELLES CONTRE B. MELOLONTHÆ NON LIQUEFACIENS α

Biologiquement, ce Bacille appartient à une espèce assez voisine du Bacille ε ; mais alors que cette dernière espèce est peu pathogène pour les Insectes en général, la première est capable d'infecter à dose très faible un grand nombre d'espèces d'Insectes. Ainsi les chenilles d'**A. segetum** qui résistent à l'inoculation de doses considérables de Bacilles ε ne résistent pas à celle de doses faibles de Bacilles α. Cependant, si les microbes inoculés proviennent de vieilles cultures, on observe généralement leur disparition totale du sang par phagocytose ; dans ce cas, l'immunité ne peut être attribuée à l'action bactéricide du sang car on n'observe jamais la formation de granules. Lorsqu'une chenille résiste à l'inoculation d'une vieille culture, elle n'acquiert pas l'état d'immunité : elle succombe toujours à une nouvelle inoculation de Bacilles jeunes. L'infection se déclare sans qu'il se forme, à aucun moment, de granules extracellulaires ; d'autre part, on ne constate pas que les micronucléocytes des chenilles ayant résisté à une première inoculation englobent mieux les Bacilles que ceux des chenilles neuves.



Les chenilles d'**A. pronubana**, espèce voisine d'**A. segetum**, se comportent très différemment de ces dernières vis à vis du Bacille α.

**Première expérience.** — Deux chenilles, l'une d'**A. segetum**, l'autre d'**A. pronubana**, sont inoculées le 26 décembre à 20 heures avec la même émulsion de Bacilles provenant d'une culture sur gélose de trois mois ; toutes les deux sont abandonnées 24 heures à l'étuve à 24°. Le lendemain à 13 heures 1/2, les deux chenilles, dont le sang ne renferme plus de Bacilles libres, sont réinoculées avec une culture de sept jours.

Après cinq minutes, le sang de la chenille d'**A. segetum** renferme de nombreux Bacilles libres ayant l'aspect des Bacilles de culture. A l'intérieur des micronucléocytes, on observe de nombreux éléments bacillaires minces et courts non altérés : ce sont les microbes phagocytés la veille et qui n'avaient pu se développer dans le sang par manque de vitalité. L'absence complète de tout granule intracellulaire est une preuve de l'absence de réaction bactériolytique dans le sang d'**A. segetum**.

Au cours des examens suivants, après dix, quinze, trente, quarante minutes, une, deux, trois, cinq et sept heures, on constate que l'infection progresse régulièrement et rapidement. Aucun des Bacilles en suspension dans le sang ou intracellulaire ne se transforme en granule. D'autre part, on n'observe pas que la réaction de phagocytose soit plus intense qu'après la première inoculation ; cette constatation, rapprochée de la précédente, constitue une preuve nouvelle en faveur de la dépendance étroite des différentes espèces de réactions, humorales ou cellulaires. Moins de vingt-quatre heures après la réinoculation, la chenille succombe à l'infection sans que, à aucun moment, on n'observe la moindre trace de réaction humorale.

Le sang de la chenille d'**A. pronubana**, examiné avant la réinoculation, présente un aspect tout différent de celui de la chenille d'**A. segetum** : on n'observe pas, dans les micronucléocytes, de Bacilles intacts, mais seulement de petits grains éosinophiles qui représentent les restes de Bacilles ou granules incorporés à la suite de la première inoculation. Vingt minutes après la réinoculation, la proportion des Bacilles transformés en granules est de 50 % environ ; le nombre des Bacilles et granules libres est considérable ; quelques-uns des éléments bacillaires sont très allongés.

Après trente minutes, la plus grande partie des microbes sont transformés en granules ; un certain nombre sont en voie de lyse. Après quarante-cinq minutes, les Bacilles libres sont rares mais les granules sont encore très nombreux. Après deux ou trois heures, les granules

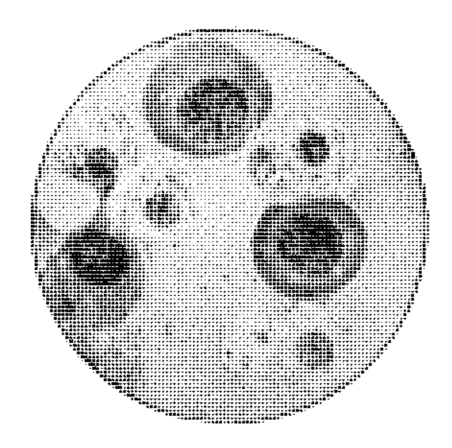


Fig. 139. — **B. melolonthae non liquefaciens** α ; transformation en granules et phagocytose des granules dans le sang de chenille d'**A. pronubana** en état d'immunité acquise 30 minutes après l'inoculation.

sont toujours aussi nombreux ; quelques-uns même ont grossi sensiblement. La phagocytose est moins intense que dans le sang de la chenille d'**A. segetum.** Après six heures, la réaction est en progrès ; après vingt heures, on n'observe plus ni Bacille ni granule dans le sang.

**Deuxième expérience.** — Le 31 décembre, une chenille d'**A. pronubana** est inoculée avec une culture de trois mois et laissée trois jours à l'étuve à 24°. Le 2 janvier, à 10 heures 25, une partie du sang est prélevée et ensemencée avec Bacilles d'une culture de trois jours ; au même moment, la chenille est inoculée avec une émulsion de Bacilles provenant de la même culture. La marche des réactions est étudiée comparativement **in vivo** et **in vitro.**

**In vivo,** la granulose commence déjà dix minutes après la réinoculation; à ce moment, la proportion des granules est de 20 % environ ; après vingt-cinq minutes, elle s'élève à 70 % ; cependant, le nombre total des éléments microbiens transformés ou non ne paraît pas sensiblement diminué. Après trente-cinq minutes, les proportions respectives de Coccobacilles et de granules ont peu varié ; quelques granules sont plus gros que la majorité des autres ; ils proviennent vraisemblablement de la transformation de Bacilles longs ; phagocytose d'intensité moyenne. Après quarante-cinq minutes, la plus grande partie des Bacilles sont transformés en granules. Après une heure et demie, on n'observe plus que de rares Bacilles libres non transformés, mais un nombre relativement élevé de granules. Après deux heures, le nombre des granules est fortement diminué. En résumé, la réaction est du même type que celle de l'expérience précédente ; elle est caractérisée avant tout par la lenteur du processus bactériolytique.



**In vitro,** la granulose ne commence guère avant une heure ; après une heure et demie, elle atteint le plus grand nombre des Bacilles, mais la réaction ne se poursuit que très lentement et les Bacilles ne disparaissent pas complètement du sang.

Des chenilles réinoculées deux fois consécutivement à vingt-quatre heures d'intervalle, réagissent sensiblement de la même manière que celles des expériences précédentes.

**Conclusions.** — 1° Le Bacille α du Hanneton est beaucoup plus pathogène pour les chenilles d'**A. pronubana** que le Bacille ε puisque l'inoculation de microbes provenant d'une jeune culture détermine la mort des chenilles par septicémie ;

2° L'immunité acquise à la suite de l'inoculation de Bacilles provenant d'une vieille culture est de nature essentiellement humorale : si, en effet, on met obstacle aux réactions humorales en maintenant les chenilles inoculées à température inférieure à 12° C, celles-ci ne s'immunisent pas et succombent même le plus souvent à l'infection bien que les micronucléocytes englobent plus ou moins activement les microbes ;

3° La vaccination des chenilles par inoculation de microbes de vieille culture rappelle beaucoup celle des Vertébrés supérieurs, mais l'immunisation est obtenue beaucoup plus rapidement ;

4° Le sang de chenille en état d'immunité acquise est moins bactériolytique pour le Bacille α que ne l'était pour le Bacille ε le sang des mêmes chenilles immunisées contre ce Bacille.

## ÉTUDE DU MÉCANISME DES RÉACTIONS HUMORALES

On peut se demander si le mécanisme des réactions qui ont pour siège le sang des chenilles d'**A. pronubana** immunisées contre le Bacille α est bien le même que celui des réactions similaires étudiées précédemment ou si, au contraire, il est conforme à l'hypothèse de BORDET. Dans le but de résoudre cette importante question, j'ai répété avec l'immunsang des chenilles d'**A. pronubana** les mêmes expériences que j'avais faites avec le sang des chenilles d'**A. segetum** immunisées contre le Bacille ε.

**Action de la chaleur et du vieillissement.**

Le chauffage de l'immunsang pendant 20 minutes à 65-66°C ne détruit pas le pouvoir bactériolytique ; le chauffage à 72-74° l'atténue sensiblement ; enfin le chauffage à 76-78° le détruit complètement. L'addition de sang normal non chauffé ne réactive pas l'immunsang chauffé.

L'action du vieillissement produit les mêmes effets que sur le sang des chenilles immunisées contre le Bacille ε. On peut donc conclure que l'immunité des chenilles d'**A. pronubana** contre **B. melolonthae non liquefaciens** α constitue une deuxième exception à la théorie des deux substances de BORDET.

## ACTION BACTÉRICIDE DU SANG DE CHENILLE SUR LES BACILLES DE CULTURE

L'expérience suivante montre que l'action bactéricide exercée **in vitro** par le sang des chenilles d'**A. pronubana** sur les Bacilles de culture est identique à celle exercée par le sang d'**A. segetum** sur le Bacille ε : le 24 janvier à 13 heures et demie, le sang d'une chenille neuve est ensemencé en tube ouvert avec Bacilles d'une culture du 3 janvier et placé à l'étuve à 24°. Le 25 janvier, une chenille neuve est inoculée avec une goutte de la culture en milieu sanguin. Les Bacilles sont du type coccobacillaire normal ; ils ont pu se multiplier dans le sang, mais la culture est pauvre en comparaison de la culture sur milieu artificiel. Morphologiquement, les éléments bacillaires ne présentent aucun signe visible d'altération.

Vingt minutes et même trois quarts d'heure après l'inoculation, on n'aperçoit pas de granule dans le sang de la chenille. Mais après une heure, la proportion atteint 25 à 30 % ; la réaction de phagocytose est presque nulle. La réaction progresse ensuite comme dans le sang des chenilles immunisées à la suite d'une inoculation de vieille culture.



En somme la réaction qui se manifeste dans l'organisme des chenilles inoculées avec Bacilles ayant été en contact prolongé avec le sang est du même type que celle qu'on observe chez les chenilles immunisées. Les Bacilles subissent donc dans le sang des altérations d'une nature très particulière qui les rendent plus aptes à se transformer en granules dans le sang circulant.

La même hypothèse que j'ai formulée pour expliquer le mécanisme de la bactériolyse du Bacille ε est valable aussi pour le cas du Bacille α. L'examen ultramicroscopique ne permet pas de mettre en évidence le changement survenu dans la composition physico-chimique du sang après la première inoculation.

Article 3.

## IMMUNITÉ DES CHENILLES DE LYMANTRIA DISPAR CONTRE B. PIERIS NON LIQUEFACIENS α

L'inoculation du **B. pieris non liquefaciens** α dans la cavité générale des chenilles de **L. dispar** donne lieu à des réactions humorales d'un type très différent de celles qui viennent d'être étudiées. Les différentes phases du processus réactionnel sont bien mises en évidence dans l'expérience suivante :

Une chenille du cinquième âge est inoculée le 25 juin avec une émulsion de Bacilles provenant d'une culture jeune sur gélose ; la chenille est ensuite abandonnée à la température du laboratoire (18° environ).

Après quinze minutes, on constate la présence de nombreux Bacilles libres dans le sang ; un très petit nombre de ces Bacilles ont conservé l'aspect coccobacillaire qu'ils présentent dans le sang de diverses chenilles en état d'infection ou dans les cultures très jeunes. Le plus grand nombre se présentent sous la forme de courts bâtonnets dont les extrémités apparaissent généralement tronquées ; cette forme dérive vraisem-

blablement du type représenté en **b** dans la figure 141 : la substance microbienne est condensée au centre du Bacille et se colore très intensément en bleu par le Giemsa ; la membrane du Coccobacille primitif persiste seule aux deux extrémités où elle limite une sorte de vacuole ; elle est fortement chromatophile.

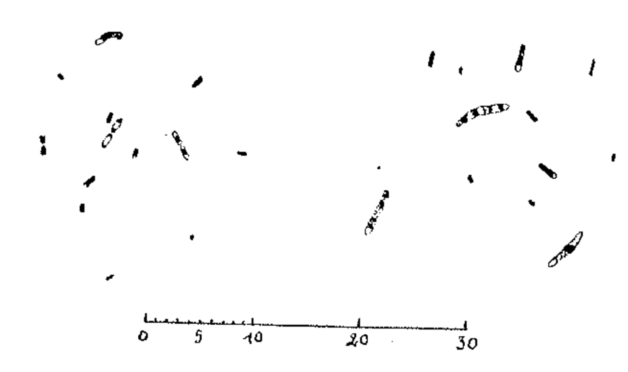



**Fig. 140.** — **Sang de L. dispar infestée par B. pieris non liquefaciens »** ; **a**, 15 minutes après l'inoculation ; **b**, 1 heure après.

La figure 140 qui représente une portion du champ microscopique vu avec l'objectif apochromatique 2 mm. et l'oculaire périplanétique 8 donne une idée approximative de la quantité de Bacilles en suspension dans le sang. Après une heure, les éléments bacillaires commencent à se développer ; leurs dimensions s'accroissent de plus en plus, mais ils ne se divisent pas ; on n'observe pas, en effet, d'éléments accouplés ou en chaînette ainsi que cela se produit fréquemment dans les liquides où la multiplication des microbes est rapide. Quelques-uns deviennent momentanément vacuolaires dans leur partie médiane (Figure 140). On peut mettre en évidence certains caractères morphologiques de la cellule bactérienne après coloration au Giemsa : la figure 141 représente trois de ces cellules très fortement grossies ; l'élément figuré en **a** présente à chacune de ses extrémités une sorte de vacuole dont les contours extérieurs sont formés par la première membrane du Bacille ;

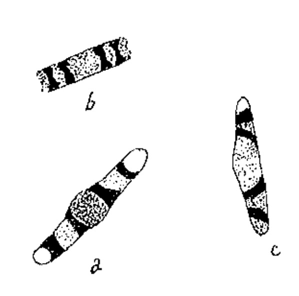



**Fig. 141.** — **Éléments de B. pieris non liquefaciens »** très fortement grossis, 1 h. après l'inoculation.



l'élément figuré en **b** a perdu cette membrane. Dans les trois éléments apparaissent avec beaucoup de netteté deux double-bandes chromatophiles qui représentent vraisemblablement le système nucléaire des deux cellules-filles en formation ; mais ces deux cellules ne se sépareront pas, l'élément continuant de grossir sans se diviser. La première phase du grossissement est ébauchée en **a** ; on distingue dans la partie médiane une masse arrondie colorée en bleu très foncé par le Giemsa, plus grosse que le Bacille, ce qui fait apparaître celui-ci légèrement renflé au centre. Cette masse, vraisemblablement formée par condensation de la substance microbienne, constituera la véritable région d'accroissement de la cellule bactérienne.




**Fig. 142.** — **B. pieris non liquefaciens »** ; 3 heures après l'inoculation.

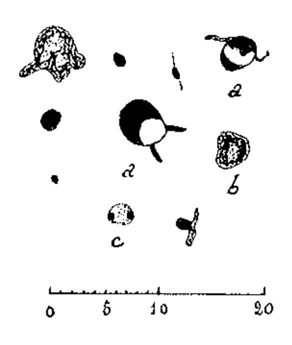



**Fig. 143.** — **B. pieris non liquefaciens »** ; 5 h. 1/2 après l'inoculation.

Après trois heures, on observe un changement considérable dans la forme générale des éléments bactériens (comparer les figures 140 et 142) ; la masse centrale surcolorée, à peine ébauchée dans quelques Bacilles une heure après l'inoculation, apparaît avec beaucoup de netteté dans la plus grande partie des microbes ; beaucoup sont en voie de grossissement rapide et forment, dans la partie médiane des Bacilles, une véritable hernie (Fig. 142, **a**). Il arrive souvent que la masse centrale s'isole du Bacille avant complet développement : elle perd les deux prolongements bacilliformes (**b**) par résorption et reste en suspension dans le sang. Les masses libres apparaissent alors comme des granules de taille variable (**c**) semblables à ceux qui se forment à la suite du processus bactériolytique par grossissement des granules ; mais les deux

sortes de masses géantes ne sauraient être confondues, car elles sont d'origine très différente.

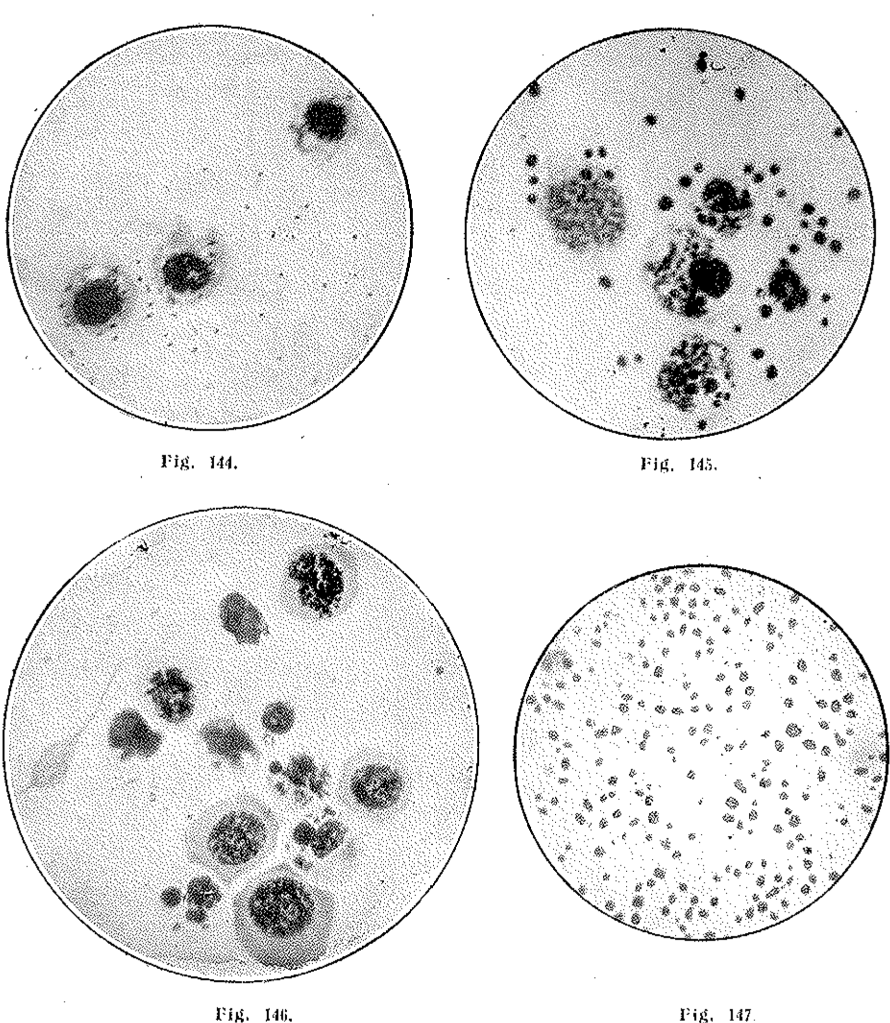


Fig. 144. Fig. 145.

Fig. 146. Fig. 147.

**Fig. 144-147.** — **B. pieris non liquefaciens** 2 ; Réactions humorales et cellulaires observées dans le sang des chenilles de **L. dispar**; 144 : 1 heure après l'inoculation; 145 : 8 heures après; 146 : 24 heures après; 147 : Sang d'une autre chenille de **L. dispar**, 28 heures après l'inoculation.

Après cinq heures et demie, le sang ne renferme plus de Coccobacilles normaux ; la proportion des masses géantes libres est sensible-



ment augmentée ; ces masses sont de forme plus ou moins régulièrement arrondie ; certaines d'entre elles sont vacuolaires (Fig. 143, **a**). Après action du Giemsa, on peut réussir à mettre en évidence, dans quelques masses, un réseau chromatophile périphérique (**b**) ou des granules à coloration nucléaire (**c**) ; ces parties différenciées de la substance microbienne ont pour origine les bandes chromatophiles du Bacille primitif.

Si l'on ensemence sur gélose inclinée une goutte de sang prélevé à ce moment, on constate que le nombre des colonies qui se développent

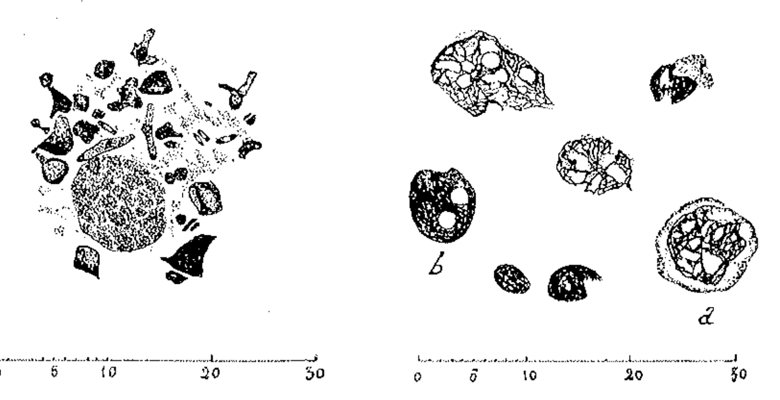



**Fig. 148.** — Micronucléocyte de chenille de **L. dispar** avec Bacilles et masses géantes intraprotoplasmiques; 5 h. 1/2 après l'inoculation avec **B. pieris non liquefaciens** « .

**Fig. 149.** — **B. pieris n. liquefaciens** « ; masses géantes dans le sang de **L. dispar**, 17 h. après l'inoculation.

ultérieurement est relativement peu élevé ; ce fait démontre que la plupart des masses en suspension dans le sang ont perdu la faculté de se reproduire sur milieu artificiel. On ne peut dire cependant que toutes soient dépourvues de vitalité, puisque la plupart d'entre elles sont encore capables de s'accroître en volume ; mais on peut dire qu'elles ont définitivement perdu la faculté de se multiplier par scissiparité.

La réaction de phagocytose est assez forte : on rencontre, dans les micronucléocytes, des Bacilles à tous les stades de transformation (Fig. 148) ; ce fait d'observation démontre que la cause des altérations morphologiques subies par les microbes doit être cherchée dans le sang lui-même et qu'elle est indépendante de l'activité leucocytaire. Un certain nombre de micronucléocytes, comme celui représenté dans la figure 148, sont détruits par les Bacilles et masses géantes phagocytés ;

dans ces éléments en voie de caryolyse, on observe que la chromatine diffuse peu à peu et constitue une masse homogène se colorant plus faiblement que les grains de chromatine du noyau normal ; le cytoplasme est complètement désorganisé et n'apparaît plus que sous forme de petits îlots mal colorés, épars au milieu des éléments microbiens phagocytés.

Après dix-sept heures, le nombre des masses microbiennes en suspension dans le sang est très diminué ; leurs dimensions moyennes sont relativement considérables et atteignent fréquemment 9 à 10 μ de diamètre (Fig. 149). Au point de vue morphologique, certaines de ces masses offrent des caractères très curieux : ainsi celle qui est représentée en **a** est une sorte de cellule avec partie centrale chromatophile filamenteuse simulant un noyau ; la couche cytoplasmique périphérique est mince et non homogène ; la plupart des autres masses géantes sont réduites au réseau chromatophile dont les filaments sont très irrégulièrement anastomosés ; un petit nombre enfin ne présentent aucune différenciation nette (**b**). Toutes ces masses disparaissent finalement du sang par un processus analogue, sinon identique, à la cytolyse des éléments du sang.

Lorsque la quantité de Bacilles injectés dans la cavité générale des chenilles est considérable, la transformation en masses géantes arrondies se produit dans les mêmes conditions et suivant le même processus que précédemment, mais les dimensions moyennes de chacune sont nettement inférieures à celles qui se produisent dans le sang à la suite d'une injection moins importante. Ainsi dans une expérience faite le 6 juillet, les masses arrondies qui se sont formées dans le sang ne mesuraient guère que 1,7 à 1,8 μ de diamètre.

Les chenilles qui ont résisté à une première inoculation et dans le sang desquelles toute trace d'élément microbien a disparu, se comportent dans l'ensemble comme des chenilles neuves. Cependant, on observe généralement, au cours des premières heures qui suivent l'inoculation, des modifications intéressantes du processus réactionnel ordinaire.

Une chenille de **L. dispar** étant inoculée une première fois le 19 juin est réinoculée deux jours après, puis une troisième fois le 23 avec Bacilles d'une culture jeune sur gélose.

Dix minutes après la réinoculation, on observe la présence, dans le sang, de granules semblables à ceux qui se forment dans le sang des chenilles d'**A. segetum** immunisées contre le **B. melolonthæ non liquefaciens** ; la proportion des granules augmente sensiblement après trente minutes et même après une heure ; un certain nombre d'entre eux paraissent en voie de lyse ; mais le plus grand nombre restent en suspension dans le sang et grossissent même par la suite. Après trois heures, la proportion des granules est de 85 à 90 % environ du nombre total des éléments microbiens ; quelques Bacilles non transformés en granules se développent suivant le processus indiqué précédemment ; beaucoup de granules sont en voie de grossissement. Après quatre heures et demie, l'aspect du sang est sensiblement le même que celui d'une chenille inoculée pour la première fois. La réaction continue comme s'il s'agissait d'une telle chenille.



Dans une autre expérience, une chenille de **L. dispar** est inoculée le 28 juin avec une culture de quinze jours ; deux jours après, elle est réinoculée avec une culture de cinq jours.

On n'observe pas, comme dans l'expérience précédente, la formation de granules immédiatement après la pénétration des Bacilles dans le sang. Après trois heures, le nombre des Bacilles en suspension dans le sang est considérable ; on commence seulement à observer la formation de renflements médians ; mais le plus grand nombre des éléments bacillaires se transforment en masses arrondies par un processus tout différent: de la forme coccobacillaire, les microbes passent à la forme arrondie par simple rapprochement des deux extrémités ; puis le granule ainsi formé se transforme directement en masse géante. L'étude cytologique des principaux types de cellule microbienne rencontrés dans le sang conduit à des résultats intéressants : le type dessiné en **a** dans la figure 150 représente le Coccobacille initial ; il est caractérisé par la présence à chacun des deux pôles d'une bande ou mieux, d'une calotte chromatophile ; à la suite du rapprochement des deux extrémités du Bacille, les deux calottes se transforment en bandes marginales qui limitent extérieurement le nouvel élément granulaire (**b**). Certaines cellules plus allongées que le Coccobacille initial présentent deux double-bandes chromatophiles placées dans le voisinage de chacun des deux pôles (**c**) : elles dérivent directement de ce Coccobacille par division nucléaire et allongement de l'élément ; on peut même observer des cellules plus allongées encore telles que **d** dans lesquelles les double-bandes sont en voie de division. Les cellules allongées sont les seules qui se renflent dans leur partie médiane pour donner naissance à ces masses géantes

caractérisées par la présence de deux prolongements bacilliformes que l'on rencontre en abondance dans le sang des chenilles inoculées pour la première fois.

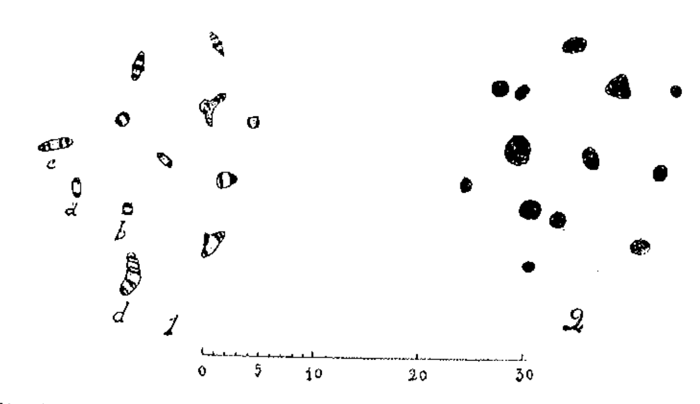



Fig. 150. — **B. pieris non liquefaciens** α ; 1, 3 heures après la réinoculation (chenille de **L. dispar**) ; 2, 5 heures après la réinoculation.

Cinq heures après la réinoculation, le sang ne renferme que des masses géantes arrondies de grosseur variable qui se colorent intensément par le Giemsa mais ne présentent plus de différenciation nette dans leur intérieur (fig. 150, **2**). A partir de ce moment, la réaction continue comme s'il s'agissait d'une chenille inoculée pour la première fois. On ne peut donc considérer les chenilles de **L. dispar** qui ont résisté à une ou plusieurs inoculations de **B. pieris non liquefaciens** α comme immunisées véritablement contre ce Bacille. La seule différence que l'on peut constater entre ces chenilles et les chenilles neuves réside dans le mode de formation des masses géantes : dans ces dernières, les masses se forment par allongement des Bacilles et renflement médian ; dans les autres au contraire, elles résultent généralement de l'accroissement exagéré des granules dérivant directement des Coccobacilles injectés. Ces granules peuvent apparaître très tôt dans le sang, avant le grossissement des Bacilles de culture ; dans ce cas, ils sont de petite taille et peuvent disparaître en partie par bactériolyse ; la formation des granules peut être au contraire plus ou moins retardée ; dans ce cas, leurs dimensions moyennes sont d'emblée élevées. Après la formation des masses géantes, le processus réactionnel est sensiblement le même dans tous les cas.



L'immunité naturelle des chenilles de **L. dispar** contre le Bacille α des Piérides, comme celle de chenilles d'**A. segetum** contre le Bacille ε du Hanneton, ou celle d'**A. pronubana** contre le Bacille α, est de nature essentiellement humorale ; mais les réactions dont le sang des chenilles est le siège sont d'un type bien différent de celles étudiées par exemple chez les chenilles de ces dernières espèces. Nous avons vu que les Bacilles injectés dans la cavité générale de ces chenilles subissaient l'influence bactéricide du sang mais réagissaient à leur tour sur le sang dont ils modifiaient plus ou moins la composition physico-chimique ; les propriétés nouvelles acquises par ce milieu le rendaient apte à réagir immédiatement sur de nouveaux éléments bacillaires (transformation en granules et lyse rapide et générale). Dans le cas du **B. pieris non liquefaciens** α au contraire, la composition du sang apparaît peu modifiée. Qu'il s'agisse de chenilles ayant déjà été injectées ou de chenilles neuves, l'action bactéricide du sang se manifeste toujours sensiblement de la même manière, c'est-à-dire par une transformation complète du mode de croissance des Bacilles et par une altération profonde de leur vitalité. Cette action bactéricide apparaît bien plus comme un effet de la composition particulière du sang qu'une conséquence de l'action diastasique d'anticorps particuliers élaborés par les cellules du sang. C'est d'ailleurs un fait d'observation courante que la forme d'un Bacille est déterminée par la composition du milieu dans lequel il végète. En cultivant sur gélose ordinaire le **Bacterium neurotomæ** que j'avais isolé de larves hivernantes de **Neurotoma nemoralis**, j'ai pu constater qu'un certain nombre d'éléments se gonflent anormalement et se transforment en masses géantes plus ou moins régulièrement arrondies, dont la substance chromatophile se condense généralement dans la partie centrale (Fig. 74) ; les masses dégénèrent rapidement, elles rappellent donc par leur forme et leurs propriétés celles qu'on observe en si grand nombre, et normalement peut-on dire, dans le sang des chenilles. GRIGORAKIS étudiant l'action de l'éther sur une Levure parasite de tissus animaux, **Rhinocladium Beurmanii**, a constaté d'autre part des transformations considérables dans la virulence et la vitalité du microorganisme. Une véritable dégradation végétative se produit qui se manifeste par un changement d'aspect des cultures. Il est possible même, comme l'admet GRIGORAKIS, qu'un phénomène de mutation se manifeste au cours de la dégradation due à l'action de l'éther.

En étudiant les formes dites de croissance, j'ai montré que certaines espèces de Bactéries cultivant dans des milieux de composition spéciale donnent naissance à des cellules aberrantes dont la forme ne rappelle en rien celle des Bacilles normaux. Les mêmes causes qui agissent dans ces milieux pour transformer le mode de croissance des microbes paraissent agir également dans le cas particulier du sang vivant des chenilles de **L. dispar** ; le mécanisme des réactions humorales serait donc, dans ce cas, d'une très grande simplicité ; malheureusement, l'explication qui est ainsi donnée ne précise pas la nature exacte des forces qui agissent pour transformer le mode de croissance des Bacilles ; mais ce problème de l'influence du milieu sur la morphologie des êtres vivants qui l'habitent, n'est-il pas un des moins connus et des plus discutés de la Biologie ? Connait-on mieux par exemple la cause réelle des transformations morphologiques de l'appareil végétatif d'un **Mucor** qui passe d'un milieu nutritif en large contact avec l'air, dans la profondeur d'un milieu sucré où il joue le rôle de ferment ?

Article 4.

## IMMUNITÉ DES CHENILLES DE L. DISPAR CONTRE LE B. BOMBYCIS NON LIQUEFACIENS

L'inoculation du **B. bombycis non liquefaciens** dans la cavité générale des chenilles de **L. dispar** donne lieu à des réactions humorales du même type que celles étudiées dans le cas précédent. Les différentes phases du processus réactionnel sont mises en évidence dans l'expérience suivante :

Quatre chenilles adultes sont inoculées le 26 juin avec Bacilles d'une culture sur gélose de trois jours puis abandonnées à la température du laboratoire (19° environ). Après sept heures le sang de chacune des chenilles ne tient plus en suspension qu'une proportion insignifiante de Bacilles normaux. On observe par contre la présence d'un très grand nombre de masses géantes de forme et de dimensions très variables ainsi qu'on peut s'en rendre compte d'après la figure 151. Beaucoup de ces masses ont la forme de cupules fortement colorées (après coloration par le Giemsa), paraissant remplies de substance hyaline non colorable ou légèrement teintée de rose. A côté de ces masses dont la signification morphologique nous échappe, on en rencontre d'autres plus ou moins régulièrement arrondies, de composition relativement homogène, semblables à celles formées par le **B. pieris non liquefaciens** $\alpha$ ; elles sont de grosseur très variable : les plus grosses mesurent 7 µ de diamètre, les plus petites sont de l'ordre de grandeur des gra-



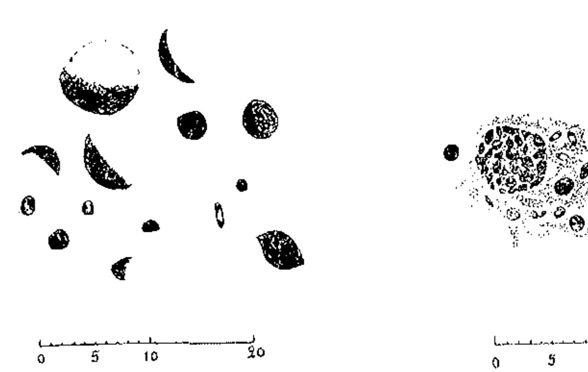



**Fig. 151. — B. bombycis non liquefaciens**; sang de chenille de **L. dispar**, 7 heures après l'inoculation.

**Fig. 152. — B. bombycis non liquefaciens**; micronucléocytes de **L. dispar** avec Bacilles et masses géantes intraprotoplasmiques.

nules ordinaires. Dans les micronucléocytes, on rencontre tous les stades de transformation des Bacilles injectés. L'examen du contenu d'une de ces cellules donne donc immédiatement des indications précises sur les diverses phases du processus réactionnel pendant les premières heures qui suivent l'inoculation (fig. 152).

On n'observe pas, comme dans le cas d'immunité étudié précédemment, que les Bacilles se renflent dans leur partie médiane pour donner naissance aux masses géantes ; ces masses résultent simplement d'un gonflement général de l'élément bacillaire. Après treize heures et demie, la plupart des masses bactériennes en suspension dans le sang ont une forme plus ou moins irrégulièrement arrondie ; beaucoup sont vacuolaires et plus ou moins échancrées sur leur pourtour (fig. 153) ; elles sont plus grosses, en général, qu'au moment de l'observation précédente. Après vingt-quatre heures, le nombre des masses libres a diminué notablement ; leurs dimensions sont encore légèrement accrues. Après trente-et-une heures, les masses sont devenues énormes ; leurs carac-

tères morphologiques rappellent ceux des masses issues du Bacille de la Piéride. Quelques-unes ont l'apparence de véritables cellules avec partie centrale différenciée (fig. 154, **a**) : ce pseudo-noyau présente la structure filamenteuse des formations similaires décrites précédemment.

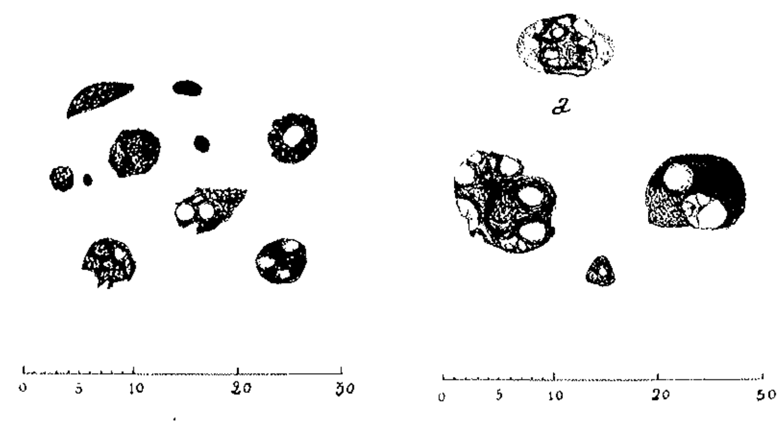


Fig. 153. — **B. bombycis non liquefaciens**; masses géantes dans le sang de **L. dispar**, 13 h. 1/2 après l'inoculation.

Fig. 154. — **B. bombycis non liquefaciens**; masses géantes dans le sang de **L. dispar**, 31 heures après l'inoculation.

La plupart des masses ne présentent aucun différenciation mais se colorent dans toute leur masse comme le noyau. Elles disparaissent du sang par un processus analogue à la chromatolyse : sur frottis coloré au Giemsa, elles apparaissent comme des taches teintées de rose

Les mêmes remarques que j'ai faites au sujet du mécanisme de l'immunité des chenilles de **L. dispar** contre le **B. pieris non liquefaciens** *α* sont aussi valables pour le cas du Bacille du Ver à soie.

Article 5.

## IMMUNITÉ DES CHENILLES DE L. DISPAR CONTRE B. MELOLONTHÆ LIQUEFACIENS γ

Ce Coccobacille, au cours de la première année où il a été isolé, s'est comporté comme un microbe très pathogène pour toutes espèces d'Insectes. Les formes de croissance qui se produisent dans le sang des chenilles de **L. dispar** ont été longuement étudiées dans un chapitre précédent.



Nous avons aussi étudié en détail l'action du Bacille sur les micronucléocytes des chenilles d'**E. chrysorrhœa.** Jamais, jusqu'en 1921, je n'avais eu l'occasion d'observer des cas d'immunité positive contre ce Bacille. La culture prolongée sur milieu artificiel a eu pour effet de modifier très sensiblement la virulence du microbe parasite. Il est à noter aussi, et nous le verrons plus en détail en étudiant les expériences relatives à l'immunité des chenilles de **L. dispar** contre ce microbe, que la production des formes de croissance est devenue à peu près normale alors qu'elle était exceptionnelle pendant les deux premières années de culture.

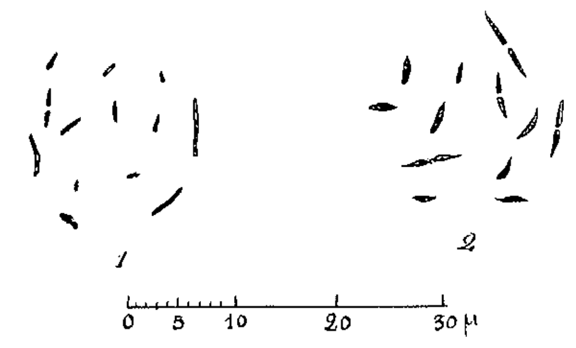



Fig. 155. — **B. melolonthae liquefaciens** γ ; sang de **L. dispar**; a, 4 heures après l'inoculation; b, 9 heures après l'inoculation.

L'immunité des chenilles contre le **Bacille γ du Hanneton** est essentiellement humorale ; elle présente beaucoup d'analogie avec les deux cas d'immunité étudiés précédemment ainsi qu'on peut le constater d'après l'expérience suivante :

Deux chenilles sont inoculées le 19 juin avec Bacilles d'une culture de vingt-quatre heures et abandonnées ensuite à la température du laboratoire (18 à 19°). Après une heure et demie, les Bacilles sont relativement peu nombreux dans le sang ; quelques-uns commencent à peine à se développer mais le plus grand nombre ont conservé l'aspect de Bacilles de culture c'est à dire sont restés minces et plus ou moins allongés (fig. 155). Après quatre heures, la plupart des Bacilles sont en voie de grossissement et de multiplication, mais on en rencontre encore peu dans le sang (moins de un par champ microscopique) ; leur forme est celle représentée dans la figure. Après neuf heures, le nombre des Bacilles a plus que décuplé ; la plupart d'entre eux sont plus gros et plus

allongés que les Bacilles normaux ; quelques uns même sont nettement filamenteux (Fig. 156 a) ; beaucoup se renflent dans leur partie médiane ; un certain nombre, comme le Bacille filamenteux représenté dans la figure, sont pourvus de deux renflements.

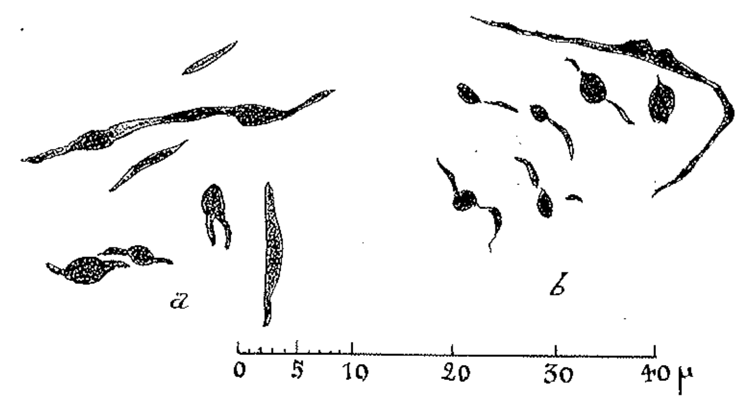



**Fig. 156.** — **B. melolonthae liquefaciens** γ ; sang de **L. dispar**; **a**, 9 heures après l'inoculation; **b**, 15 heures après l'inoculation.

Jusqu'à ce moment, on peut constater que l'infection progresse régulièrement et rapidement ; malgré la tendance marquée des Bacilles à l'allongement et à l'épaississement, ceux-ci se multiplient activement dans le sang. Vers la neuvième ou dixième heure apparaissent des masses géantes arrondies, de grosseur variable, dont le nombre croît très rapidement à mesure que disparaissent les éléments bacilliformes. Elles se forment, ainsi qu'on peut le voir dans la figure 156 (**b**), par isolement de la partie renflée du Bacille et résorption des prolongements bacilliformes. A partir de ce moment, les Bacilles cessent de se multiplier et on assiste à la disparition progressive des masses géantes et des éléments bacilliformes. Certains de ces éléments dégénèrent avant d'avoir pu donner naissance à une masse géante ; la figure 157 représente l'un d'eux (**a**) au début de la phase de dégénérescence.

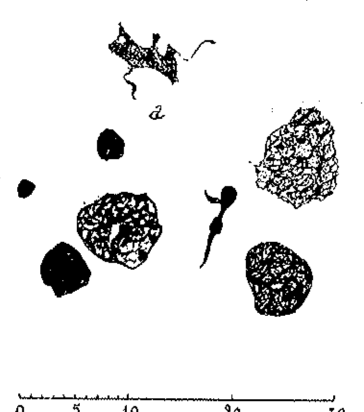



**Fig. 157.** — **B. melolonthae liquefaciens** γ ; sang de **L. dispar**, 24 h. après l'inoculation.



Vingt-quatre heures après l'inoculation, le sang ne renferme plus qu'un nombre de masses géantes bien inférieur à celui des éléments microbiens de toutes formes rencontrés quinze heures auparavant. Ces masses sont généralement de taille énorme ; morphologiquement, elles

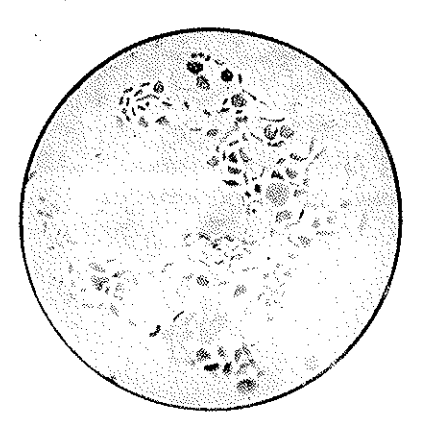


**Fig. 158.** — **B. melolonthae liquefaciens** γ ; transformation en masses arrondies dans le sang de **L. dispar**, 15 heures après l'inoculation.

présentent beaucoup d'analogies avec celles formées par les deux Bacilles précédemment étudiés ; elles sont caractérisées comme elles, par leur structure en réseau et par leur chromatophilie (fig. 157). Les masses géantes disparaissent du sang par un processus analogue à celui que j'ai décrit plus haut.




**Fig. 159.** — **B. melolonthae liquefaciens** γ ; micronucléocytes de chenille de **L. dispar** en voie de destruction après inoculation de Bacilles dans la cavité générale.

Pendant tout le cours de l'expérience, on ne constate à aucun moment de manifestation active de la réaction phagocytaire; on observe par contre que les micronucléocytes subissent l'action destructive de la toxine sécrétée par les Bacilles. Cette action se manifeste d'abord par l'apparition d'inclusions cytoplasmiques; d'abord basophiles, les inclusions deviennent ensuite chromatophiles; en même temps la chromatine du noyau diffuse peu à peu et celui-ci apparaît bientôt sous forme d'une plaque uniformément teintée de rose après coloration par le Giem-

sa ; les inclusions perdent leurs contours précis et s'estompent de plus en plus pour disparaître finalement sans laisser de traces ; la figure 159 représente deux de ces cellules en voie de destruction.

On peut observer aussi un autre processus tout différent de destruction cellulaire : dans certaines cellules comme celle représentée en **a** dans la figure 160, les chromosomes se soudent entre eux pour former un petit nombre de masses chromatophiles intensément colorées ; dans un autre stade représenté en **b**, les masses nucléaires se dispersent dans le cytoplasme ; le dernier stade représenté en **c** est caractérisé par la destruction complète du noyau. Le processus morbide dont je viens de résumer brièvement les principales phases, débute donc par une altération profonde du noyau qui aboutit à sa destruction ; ce processus est bien connu en pathologie : c'est la fragmentation en pycnose dont on ignore les causes profondes.

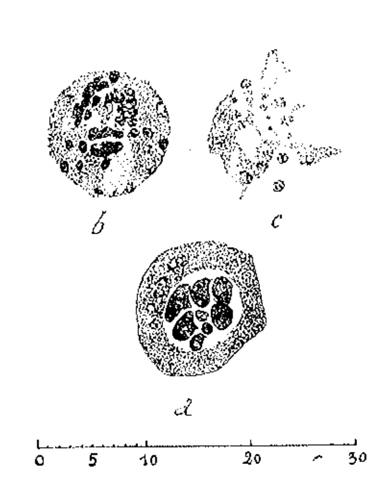



**Fig. 160.** — Noyaux de cellules sanguines de **L. dispar**, en pycnose, après inoculation de **B. melolonthae liquefaciens** $\gamma$.

L'immunité des chenilles de **L. dispar** contre le **B. melolonthæ liquefaciens** $\gamma$ doit être considérée comme une immunité purement humorale ; elle diffère de l'immunité des autres chenilles contre le **B. pieris non liquefaciens** $\alpha$ par les caractères suivants : absence de toute réaction cellulaire d'immunité ; multiplication active des Bacilles dans le sang avant le déclenchement du processus réactionnel humoral. Le déclenchement de ce processus au cours de l'infection laisse supposer que le sang de **L. dispar** acquiert ses propriétés microbicides seulement après que les Bacilles ont agi par leurs produits de sécrétion sur sa composition générale. Mais alors, il semblerait que ce milieu dût conserver ses propriétés microbicides. Ce n'est pas la conclusion qui se dégage de l'expérience suivante :

Deux chenilles de **L. dispar** sont inoculées : une première fois le 17 juin avec Bacilles provenant d'une culture sur gélose de un mois ; une deuxième fois, le 19, avec une émulsion faite avec la même culture. Ces deux chenilles ont été examinées aux mêmes heures que celles inoculées pour la première fois.



Après neuf heures, le sang de l'une est riche en Bacilles anormalement gros et allongés (aspect correspondant à celui de la figure 156) dont la plupart présentent un renflement médian ; celui de l'autre, au contraire, ne renferme qu'un petit nombre de Bacilles en voie de développement.

Après vingt-quatre heures, la première chenille meurt en état d'infection ; le sang, d'aspect trouble est très riche en Coccobacilles typiques mais ne renferme plus de Bacilles énormes avec renflement médian. La deuxième chenille résiste au contraire à l'infection ; l'aspect du sang est le même que celui des chenilles de l'expérience précédente. Il ne paraît donc exister aucune différence dans les processus réactionnels qui se déroulent dans le sang des chenilles neuves et dans celui des chenilles ayant déjà résisté à une première inoculation. A moins de supposer que le pouvoir bactéricide du sang disparaisse aussitôt après la destruction des éléments microbiens, ce qui paraît peu vraisemblable, l'hypothèse d'une modification stable de la composition générale du sang sous l'influence des Bacilles doit être écartée. On peut envisager une autre explication des processus réactionnels : pendant les premières heures de leur développement, les Bacilles injectés se comportent comme des cellules fragiles mal équilibrées par rapport au milieu dans lequel elles se développent ; ce déséquilibre, qui peut avoir pour cause une différence de pression osmotique exagérée entre la substance microbienne et le sang, s'accentue encore avec la formation de cellules bactériennes nouvelles ; il arrive un moment où celles-ci deviennent incapables de se multiplier : l'infection atteint alors son point culminant. A partir de ce moment, elle décroît lentement par destruction progressive des masses géantes dépourvues de vitalité. Si la quantité de Bacilles injectés est considérable, le développement simultané de nombreuses cellules microbiennes et la mise en liberté de produits bactériens nouveaux déterminent un changement plus ou moins important de la pression osmotique du sang. Les Bacilles peuvent alors se multiplier comme ils le feraient dans un milieu de culture ordinaire.

Article 6.

## IMMUNITÉ DES CHENILLES DE MACROLÉPIDOPTÈRES CONTRE B. PROTEIDIS

Ce Bacille est généralement peu pathogène pour les Insectes ; inoculé dans la cavité générale des chenilles de Macrolépidoptères, il détermine rarement leur mort. Les processus réactionnels qui se déroulent dans le sang des chenilles sont d'un type assez particulier ; ils ont été bien mis en évidence dans le sang des chenilles de **Vanessa polychloros.** L'expérience suivante en résume les principales phases.

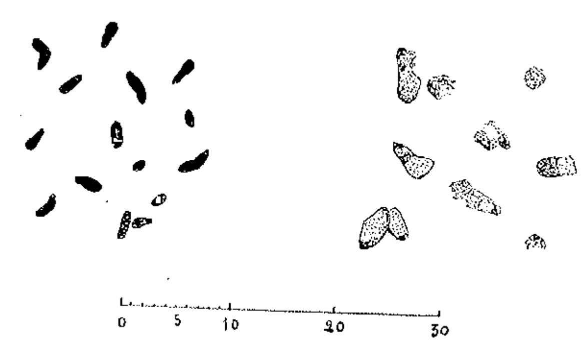



Fig. 161. — **B. proteidis**; sang de **V. polychloros**; 1, 5 minutes après l'inoculation; 2, 5 heures après l'inoculation.

Une chenille est inoculée le 28 mai avec le sang d'une chenille venant de succomber à l'infection ; aussitôt après l'injection, l'aspect des Bacilles est celui représenté dans la figure 161 ; leur forme varie dans d'assez grandes limites (le nom du Bacille est précisément tiré de ce caractère morphologique) ; ils se colorent intensément et d'une manière très homogène. Après quelque temps de contact avec le sang vivant, on constate que la plupart des éléments bacillaires se gonflent plus ou moins en perdant peu à peu leur affinité pour les colorants. Cinq heures après l'inoculation, le plus grand nombre des Bacilles sont en voie de destruction et se présentent sous forme de masses irrégulièrement arrondies peu colorées. Les autres ont encore l'apparence de Bacilles normaux



mais ils se multiplient faiblement ; ils subissent finalement l'action bactéricide du sang ; aussi après dix-sept heures, ne rencontre-t-on plus dans le sang que des éléments gonflés, irrégulièrement colorés, en voie de dégénérescence. La réaction de phagocytose est faible. Dans le sang des chenilles de **L. dispar** et d'**E. chrysorrhœa,** elle est beaucoup plus active.

Les chenilles qui ont résisté à une première inoculation et dans le sang desquelles on ne trouve plus de Bacilles libres, réagissent comme les chenilles neuves après une nouvelle injection.

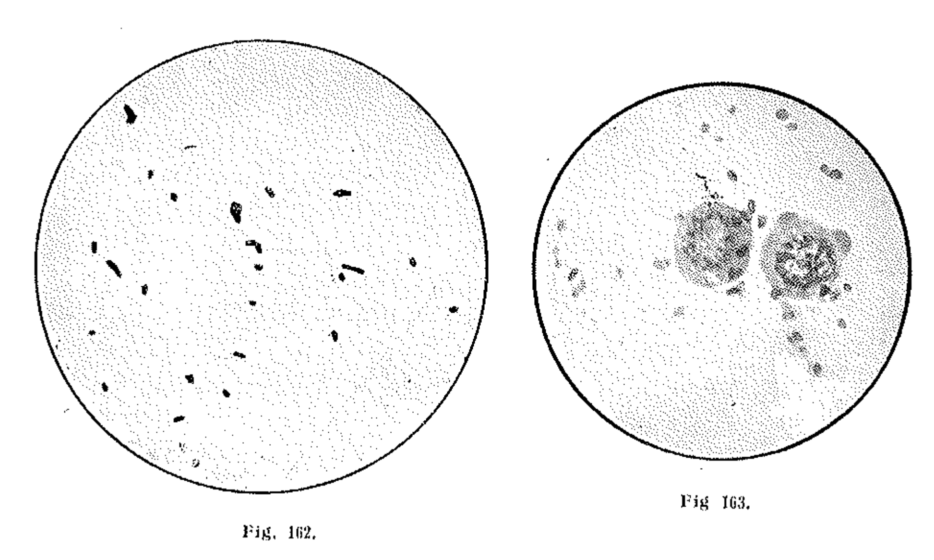


Fig. 162. Fig 163.

Fig. 162 et 163. — Bactériolyse de **Bac. proteidis** dans le sang de chenille de **Vanessa polychloros.** 162, 5 minutes après l'inoculation; 163, 5 heures après.

L'immunité des chenilles contre **B. proteidis** peut être considérée comme un nouvel exemple d'immunité de type humoral. Les réactions qui se déroulent dans le sang paraissent cependant d'un type bien différent de celles étudiées précédemment : en effet, les Bacilles ne se transforment pas en masses géantes arrondies qui grossissent un certain temps avant de disparaître dans le sang : ils se gonflent simplement, perdent leur affinité pour les colorants et disparaissent peu à peu. La cellule bactérienne se révèle ici comme une cellule très fragile. Tout se passe comme si la pression osmotique de la cellule était très supérieure à celle du milieu environnant ; cette différence d'équilibre aurait pour conséquence un enrichissement de plus en plus grand de la substance bactérienne en eau.

## CONCLUSIONS

Les six cas différents d'immunité que nous venons d'étudier appartiennent sans aucun doute à la catégorie des réactions dites humorales. Ils diffèrent notablement les uns des autres et la même hypothèse ne peut servir pour expliquer le mécanisme des différentes réactions qui composent le tableau biologique de chacun d'eux. Aucune ne peut être attribuée à l'action bactéricide d'une substance particulière préformée dans le sang ou élaborée par les amibocytes au cours de l'infection ; toutes les réactions observées semblent avoir pour cause des modifications physico-chimiques de la substance bactérienne et du milieu sanguin, modifications déterminées par l'action réciproque des deux complexes organiques vivants. Le manque de précision des hypothèses que j'ai émises pour expliquer le mécanisme des réactions est une conséquence de l'insuffisance de nos connaissances sur la chimie des colloïdes vivants. En multipliant l'étude des cas d'espèces, on peut espérer tout au plus mettre en évidence un certain nombre de lois générales qui modifieront plus ou moins notre conception actuelle du mécanisme de l'immunité, mais on ne pourra sortir de l'imprécision des hypothèses générales que lorsqu'on aura précisé les lois qui régissent les rapports des colloïdes vivants entre eux. Malheureusement, ce chapitre de la Chimie est à peine ébauché et de nombreuses années s'écouleront encore avant que nous puissions nous faire une idée exacte du mécanisme des réactions, même les plus simples, dont les tissus de l'être vivant sont le siège.

Comme chez les Vertébrés, l'immunisation des chenilles contre les Bacilles entomophytes est spécifique.

CHAPITRE XVII

# Importance relative du rôle des cellules et du sang dans l'immunité.

L'opinion presque unanime considère la phagocytose comme le « pivot de l'immunité antimicrobienne naturelle » (Arthus). D'après l'étude que j'ai faite des principaux cas d'immunité humorale observés chez un certain nombre d'espèces de Macrolépidoptères, il ne semble pas que cette opinion absolue soit fondée, au moins chez les Insectes. Pour nous rendre compte de l'importance relative de la phagocytose et des réactions humorales proprement dites dans l'immunité, il est nécessaire d'étudier comparativement l'action pathogène des différentes Bactéries entomophytes sur un certain nombre d'Insectes.

Les Bacilles les plus pathogènes sont généralement peu phagocytés et ne subissent pas l'influence bactéricide du sang ; les espèces suivantes peuvent être rangées dans ce groupe : **B. melolonthæ liquefaciens** $\alpha$, $\beta$ et $\gamma$ ; **B. lymantricola adiposus, B. lymantriae** $\beta$ ; **B. pieris fluorescens, B. pieris liquefaciens** $\alpha$ et $\beta$, **B. pieris non liquefaciens** $\beta$, **B. pieris agilis.** Parmi les autres, le plus grand nombre subissent plus ou moins l'action bactéricide du sang, mais un certain nombre comme **B. liparis, Diplococcus liparis, Diplococcus melolonthæ, Diplobacillus melolonthæ, Diplococcus** et **Diplobacillus pieris** paraissent résister à cette action. Il est à remarquer que toutes ces espèces restent colorées par la méthode de Gram.

## ACTION PATHOGÈNE DU D. LIPARIS SUR LES INSECTES

D'une manière générale, les chenilles ou autres larves inoculées avec cette Bactérie offrent moins de résistance à l'infection que les mêmes Insectes inoculés avec **B. liparis.** Cette différence de réceptivité tient d'abord à ce que cette dernière espèce est plus rapidement phagocytée :

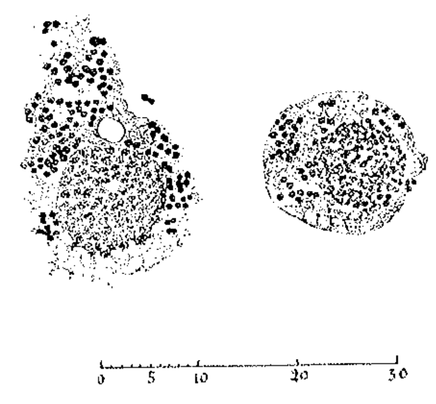


Fig. 164. — Phagocytose de **Diploc. liparis** par les amibocytes d'E. **chrysorrhœa**; noyau de micronucléocyte en voie de destruction.

ainsi deux heures après l'injection de Bacilles ou Diplocoques dans la cavité générale de chenilles d'**E. chrysorrhœa** on constate que la majorité des éléments bacillaires est déjà englobée par les micronucléocytes alors que la phagocytose des Diplocoques est à peine commencée. Un certain nombre de chenilles de **Liparis** et d'**Euproctis** succombent à l'infection ; on peut affirmer que l'immunité, chez celles qui résistent, est essentiellement d'ordre cellulaire. Les chenilles qui résistent à une première injection ne peuvent être considérées comme immunisées contre le microbe.

## ACTION PATHOGÈNE DU D. MELOLONTHÆ SUR LES INSECTES

Le Hanneton ordinaire et le Rhyzotrogue (**R. solstitialis**) n'offrent aucune résistance à l'infection. De même les chenilles d'**Eriogaster lanestris** succombent généralement malgré une réaction de phagocytose assez active ; les chenilles de **L. dispar** s'infectent assez facilement et cependant la réaction phagocytaire est très active.



## ACTION PATHOGÈNE DU DIPLOB. MELOLONTHÆ SUR LES CHENILLES

Les chenilles d'**E. lanestris** et de **Vanessa urticae** offrent peu de résistance à l'infection. Par contre, celles de **L. dispar** et d'**E. chrysorrhœa** sont moins sensibles. Il est indéniable que les micronucléocytes jouent un rôle prépondérant dans la marche du processus infectieux ; ils le retardent très sensiblement et l'enrayent même assez souvent. Le rôle des éléments phagocytants est surtout capital pendant les premières heures qui suivent l'injection : en effet, la multiplication des Bacilles suit une progression géométrique tandis que l'englobement phagocytaire, proportionnel il est vrai à l'augmentation du nombre des Bacilles, suit néanmoins une progression beaucoup moins rapide ; pour réussir à faire disparaître en totalité les éléments en suspension dans le sang, il est essentiel que les micronucléocytes englobent la plus grande partie des microbes avant que ceux-ci n'aient eu le temps de pulluler dans le sang ; cette éventualité se produit seulement dans le cas où le développement du microbe est retardé et où celui-ci possède une grande affinité pour les éléments phagocytants, comme cela se produit avec le **B. liparis.**

Le **Diploc.** et le **Diplob. pieris** se comportent comme les espèces similaires du Hanneton.

## ACTION PATHOGÈNE DU D. BOMBYCIS SUR LES CHENILLES

Morphologiquement, cette espèce se rapproche beaucoup des Diplocoques dont nous venons d'étudier l'action pathogène contre divers Insectes ; elle s'en rapproche aussi par les caractères des cultures sur milieu artificiel, mais elle en diffère notablement par les réactions qu'elle engendre dans l'organisme de certaines chenilles de Macrolépidoptères comme celles de **L. dispar, Malacosoma neustria, E. chrysorrhœa.**

### Action pathogène sur chenilles de M. neustria.

Quatre chenilles adultes sont inoculées le 29 mai avec Bacilles provenant d'une culture sur gélose de huit jours et abandonnées ensuite à la température du laboratoire (15-16° C). Quarante-huit heures après l'injection, deux des chenilles sont en état d'infection généralisée ; les micronucléocytes apparaissent bourrés de microbes. Le sang de l'une des deux autres chenilles ayant résisté à l'infection présente l'aspect sui-

vant : peu de Diplocoques libres ; phagocytose presque nulle ; un certain nombre de Cocci sont en voie de destruction dans le sang et apparaissent colorés seulement sur le pourtour. On ne peut nier que, dans ce cas, le microbe ne subisse l'action bactéricide du sang ; cependant cette action n'est pas suffisante pour arrêter complètement l'infection. L'action humorale est encore moins marquée dans le sang de la dernière chenille ; aussi les Diplocoques peuvent-ils se multiplier plus activement ; au moment de l'examen, ils commencent à pulluler dans le sang ; la réaction phagocytaire est très faible.

### Action pathogène sur chenilles d'E. chrysorrhœa.

Quatre chenilles sont inoculées le 5 juin avec microbes provenant d'une culture sur gélose de 8 jours et abandonnées ensuite à la température du laboratoire (16° environ). Les quatre chenilles résistent à l'infection et quarante-trois heures après l'injection, on ne retrouve plus aucun Diplocoque libre dans le sang. Les micronucléocytes de deux des chenilles ne renferment aucun microbe ni débris microbien ; ceux des deux autres montrent encore des traces nombreuses de phagocytose. Les Diplocoques sont encore visibles dans le cytoplasme et apparaissent sous forme d'inclusions sensiblement plus grosses que les microbes normaux ; les différents signes d'altération présentés par ces microbes donnent à penser que ces altérations sont antérieures à l'englobement phagocytaire ; l'expérience suivante apporte une confirmation à cette manière de voir.

Deux chenilles, dont l'une a déjà reçu une première injection deux jours auparavant, sont inoculées le 10 juin avec microbes provenant d'une culture sur gélose de huit jours. Dix minutes après l'inoculation, l'aspect des microbes est celui représenté dans la figure 165 (à gauche), forme ovoïde plus ou moins allongée ; dimensions assez régulières ; coloration homogène. Après cinq heures, la forme des Cocci et chaînettes est notablement modifiée: les éléments microbiens ont tendance à s'arrondir et même à s'aplatir sur le petit axe ; quelques uns sont en voie de bactériolyse ; un certain nombre paraissent réduits à leur enveloppe qui apparaît seule colorée.

La phagocytose semble plus intense dans le sang des chenilles réinoculées que dans celui de la chenille neuve ; Cocci normaux ou altérés disparaissent alors plus rapidement du sang de la première. Cette différence dans le processus réactionnel est plutôt quantitative que qualitative : en



effet, l'englobement phagocytaire est sensiblement le même dans les deux cas, mais les éléments cellulaires en suspension dans le sang sont plus nombreux chez la chenille réinoculée que chez l'autre, ce qui paraît tenir à l'hypoleucocytose provoquée par une première injection microbienne.

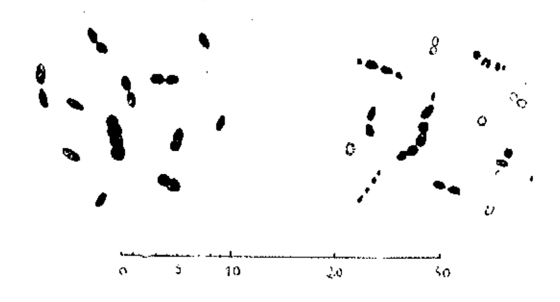



Fig. 165. — **Diplococcus bombycis**; 1, 10 minutes après l'inoculation dans la cavité générale de chenille d'E. **chrysorrhœa**; 2, 5 heures après.

L'immunité des chenilles de **L. dispar** contre le **D. bombycis** est sensiblement la même que celle des chenilles d'**Euproctis**. Pour déterminer l'infection de ces deux espèces de chenilles, il est nécessaire d'injecter une grosse quantité de microbes. Les chenilles d'**E. lanestris** et de **V. urticæ** s'infectent beaucoup plus facilement.

## ACTION PATHOGÈNE DU B. MELOLONTHÆ NON LIQUEFACIENS γ SUR LES CHENILLES D'E. CHRYSORRHŒA

Quatre chenilles sont inoculées le 11 mai avec microbes provenant d'une culture sur gélose de quatre mois. Après vingt-trois heures, deux d'entre elles sont en état d'infection généralisée. Dans les deux autres, les Bacilles libres sont assez nombreux, mais on constate la présence d'une proportion assez importante de granules (15 à 30 %) ; l'intensité de la réaction phagocytaire est moyenne ; elle s'exerce principalement sur les granules.

Après quarante-six heures, les deux chenilles peuvent être considérées comme immunisées. Dans le sang de la première, on ne trouve plus ni Bacille ni granule ; même dans les micronucléocytes, on n'observe plus que de rares inclusions d'origine bactérienne. Dans le sang

de l'autre chenille, on trouve encore quelques rares Bacilles libres, mais une proportion plus forte de granules de toutes grosseurs ; les micronucléocytes renferment surtout des granules.

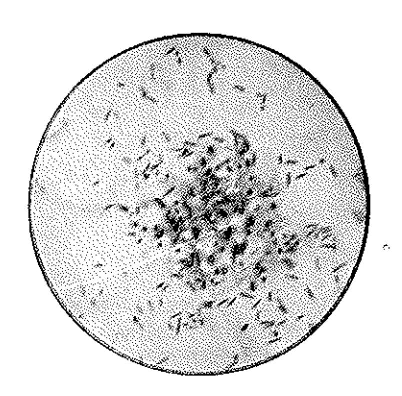


Fig. 166. — B. melolonthae non liquefaciens $\gamma$ ; passage par chenille d'E. chrysorrhœa; 24 heures après l'inoculation ; rares granules extracellulaires; assez nombreux granules phagocytés.

En résumé, les chenilles d'**Euproctis** peuvent être immunisées contre le Bacille $\gamma$ du Hanneton, mais l'action bactéricide du sang est beaucoup moins nette que dans le cas du Bacille $\varepsilon$ ; aussi l'immunité est-elle plus longue à s'établir.

Dans une autre expérience, une chenille est inoculée une première fois le 11 mai à 19 h. 1/4 avec une culture du 13 avril chauffée deux heures à 55° ; une deuxième fois le 13 à 9 heures 1/4 avec la même culture non chauffée. Jusqu'à la cinquième heure, on n'observe pas de changement sensible dans l'aspect du sang ; les Bacilles libres relativement nombreux paraissent toujours à l'état de repos ; pas de réaction humorale ni phagocytaire. Après neuf heures, la plus grande partie des microbes en suspension dans le sang sont transformés en granules dont beaucoup sont très petits et à peine visibles ; phagocytose très faible. Après douze heures, on rencontre encore quelques rares Bacilles libres et granules ; dans les micronucléocytes, on ne trouve que des granules, mais en très petit nombre.

Les autres expériences montrent toutes que l'immunisation obtenue par injection préalable de culture chauffée est de nature essentiellement humorale, mais elle est assez fugace ; d'un autre côté, le processus réactionnel qui se déroule dans le sang des chenilles ainsi immunisées diffère par sa longueur de ceux qui ont été décrits précédemment chez les chenilles d'**Agrotis** immunisées contre les Bacilles $\alpha$ et $\varepsilon$ du Hanneton.

## ACTION PATHOGÈNE SUR LES CHENILLES DE L. DISPAR ET DE VANESSA POLYCHLOROS

On observe chez les chenilles de **L. dispar** une intensification de la réaction humorale; celle-ci est beaucoup plus importante que la réaction phagocytaire. Dans certains cas, chez les chenilles immunisées, on peut



constater une reprise de l'infection après une première phase de granulose et bactériolyse, puis une reprise de la réaction humorale.

Les chenilles de **V. polychloros** peuvent s'immuniser comme les précédentes ; on constate également que la granulose et la bactériolyse commencent plus tard que chez les chenilles d'**Agrotis** immunisées contre les Bacilles $\alpha$ et $\varepsilon$.

Les chenilles de **V. urticæ** et d'**E. lanestris** sont sensibles à l'infection et on n'observe aucune réaction de défense importante dans le sang.

## ACTION PATHOGÈNE DU B. MELOLONTHÆ NON LIQUEFACIENS $\alpha$ SUR CHENILLES DE MACROLÉPIDOPTÈRES

Ce Bacille est très pathogène pour un grand nombre d'espèces de chenilles. Toutes cependant phagocytent activement les Bacilles injectés mais aucune ne les détruit en dehors des cellules. Les chenilles de **L. dispar,** par contre, offrent une résistance remarquable à l'infection. L'inoculation de Bacilles dans la cavité générale déclenche après quelques heures un processus réactionnel qui se manifeste par la transformation des éléments bacillaires en granules ou masses géantes ; la phagocytose est peu active et s'exerce principalement sur les granules. Dans certains cas, les réactions de défense sont impuissantes à enrayer l'infection.

## ACTION PATHOGÈNE DU B. BOMBYCIS NON LIQUEFACIENS SUR CHENILLES D'E. CHRYSORRHŒA

Les chenilles d'**E. chrysorrhœa** offrent une résistance remarquable à l'infection par le Bacille du Ver à soie.

Quatre chenilles sont inoculées le 7 mai avec une culture du 13 avril puis abandonnées à la température de 15°. Après vingt heures et demie on observe la présence de quelques Bacilles normaux dans le sang de la première chenille ; beaucoup sont phagocytés ; on ne rencontre encore aucun granule dans le sang ni dans les micronucléocytes. Après vingt-cinq heures et demie, augmentation notable du nombre des Bacilles libres ; présence de quelques granules libres et phagocytés. Après

vingt-six heures et demie, la proportion des granules libres est en augmentation très nette ; quelques-uns sont en voie de grossissement ; pha-

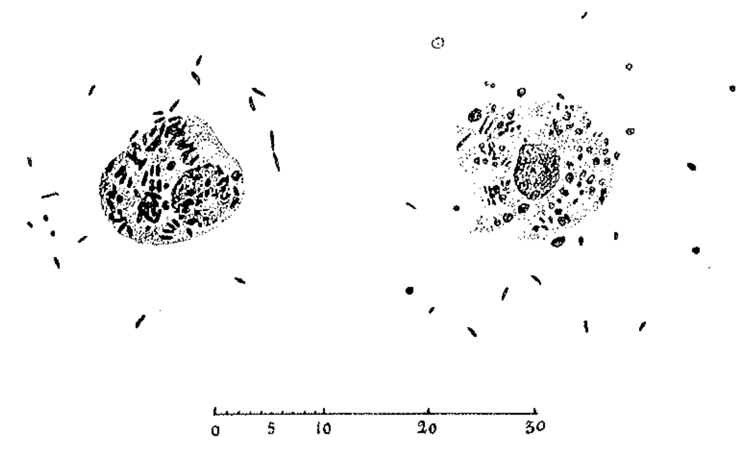


Fig. 167. — Bac. bombycis n. liquefaciens; 23 h. 1/2 et 25 h. 1/2 après l'inoculation dans la cavité générale d'une chenille d'E chrysorrhœa.

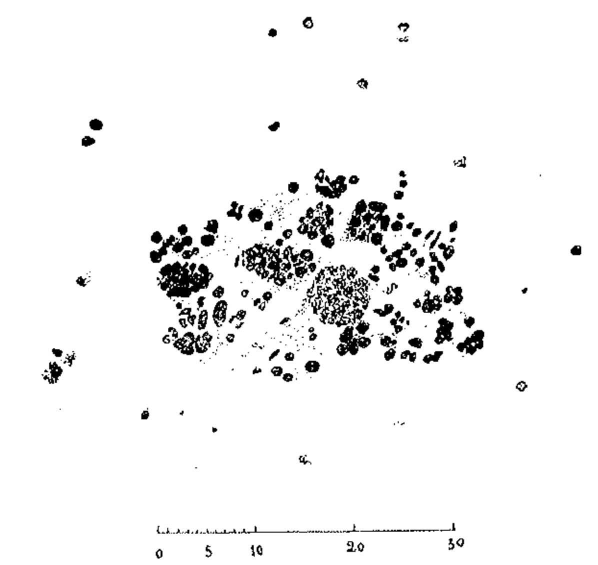


Fig. 168. — B. bombycis n. liquefaciens; 43 heures après l'inoculation dans la cavité générale d'une chenille d'E. chrysorrhœa

gocytose plus intense des granules. Après quarante-trois heures, l'aspect du sang est le suivant : assez nombreux granules libres en voie de bac-



tériolyse (aspect de plaques mal colorées à bords non définis) ; beaucoup sont phagocytés ; très rares Bacilles libres.

Le processus réactionnel commence plus tôt dans le sang de la deuxième chenille ; l'immunité est ainsi plus rapidement et plus complètement assurée.

Le sang de la troisième chenille renferme encore de nombreux Bacilles libres vingt heures et demie après l'inoculation ; la proportion des granules est de 25 % environ; phagocytose intense s'exerçant principalement sur les granules (fig. 167, à gauche). Après vingt-cinq heures et demie, le nombre des éléments microbiens en suspension dans le sang ne paraît pas diminué, mais la proportion des granules est en augmentation très nette et dépasse 50 % ; quelques-uns sont en voie de grossissement (fig. 167, à droite). Après vingt-six heures et demie, la proportion des granules atteint 75 % ; phagocytose intense ; la plupart des micronucléocytes sont remplis de granules. Après quarante-trois heures, la réaction est très avancée ; très rares Bacilles libres; quelques granules dont un certain nombre sont en voie de bactériolyse.

## ACTION PATHOGÈNE DU B. PIERIS NON LIQUEFACIENS $\alpha$ SUR CHENILLES D'E. CHRYSORRHŒA

L'immunisation avec cultures chauffées ou vieilles cultures est assez difficile à obtenir. Une chenille est inoculée une première fois le 11 mai à 9 heures 1/4 avec une culture du 13 avril chauffée deux heures à 53°; une deuxième fois le 13 mai à 9 heures 1/4 avec Bacilles d'une culture non chauffée. Trente minutes après l'inoculation, on trouve déjà des granules dans le sang ; après une heure, la proportion de ces éléments atteint 50 % ; phagocytose faible s'exerçant surtout sur les granules ; à partir de ce moment, la granulose subit un temps d'arrêt et les Bacilles se multiplient assez activement. Neuf heures après l'inoculation, on constate une reprise de la granulose ; la phagocytose est aussi plus intense, non que l'énergie phagocytaire soit augmentée, mais parce que le nombre des microbes en suspension dans le sang est en augmentation sensible et que les granules, plus phagocytables que les Bacilles, sont aussi plus nombreux.

Après douze heures, la proportion des granules est de 75 % environ ; aucun d'eux ne paraît en voie de bactériolyse ; les micronucléocytes sont généralement bourrés de Bacilles et de granules. Malgré l'in-

tensité assez forte des réactions humorale et cellulaire, l'infection finit par triompher.

Quand la proportion de Bacilles injectés est moins importante, les chenilles peuvent résister à l'infection.

## ACTION PATHOGÈNE DU B. NEUROTOMÆ SUR LES INSECTES

Les différentes espèces d'Insectes inoculées avec émulsion de Bacilles de culture, s'infectent généralement sans réagir autrement que

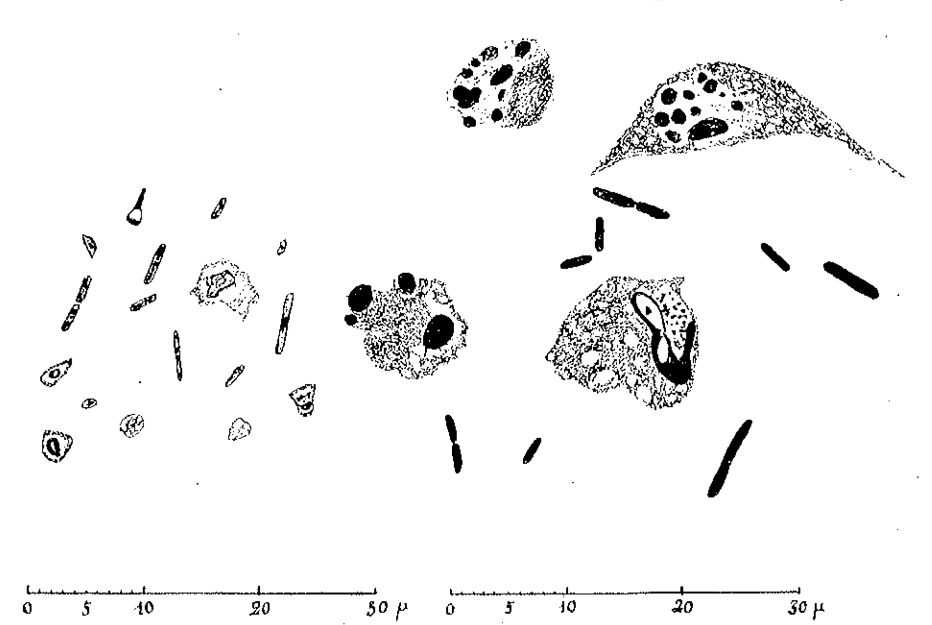


**Fig. 169.** — Réaction humorale dans le sang d'une larve de **N. nemoralis** inoculée depuis 24 h. avec culture de **B. neurotomæ** (culture de 3 jours sur gélose).

**Fig. 170.** — Pycnose du noyau dans les leucocytes du sang de larves de Neurotoma inoculées depuis 24 heures avec culture sur gélose de **B. neurotomae.**

par phagocytose. Les larves de **Neurotoma nemoralis** sont également assez sensibles à l'infection, mais en dehors de la réaction de phagocytose, on constate aussi l'existence de réactions humorales dont l'effet est de transformer les éléments bacillaires en masses géantes semblables à celle qu'on peut observer sur milieu de culture (Fig. 169)). L'action



pathogène des Bacilles se manifeste par la destruction pycnotique du noyau de certains amibocytes ; la proportion des cellules ainsi altérées peut être très forte. On constate également que le noyau de quelques éléments du sang est rejeté à la périphérie (Fig. 172) ; ces cellules pa-

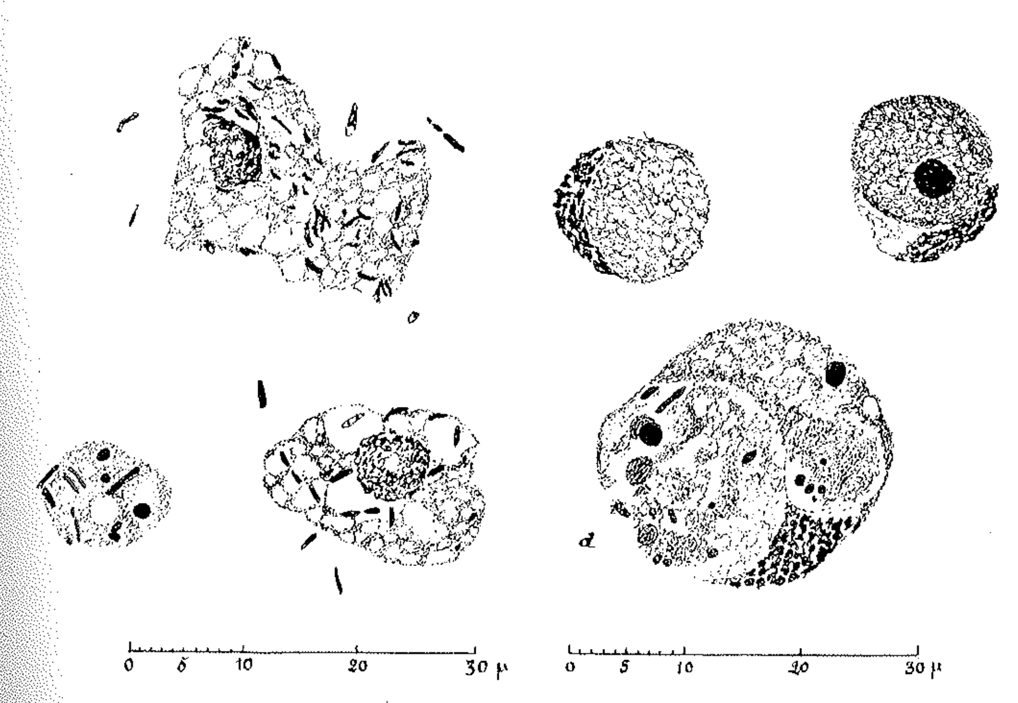


**Fig. 171.** — Phagocytose de **B. neurotomae** par micronucléocytes de larve de Neurotoma inoculée depuis 24 heures avec culture sur gélose de 5 jours.

**Fig. 172.** — Leucocytes de larves de Neurotoma avec noyau rejeté à la périphérie. Ces cellules sont abondantes dans le sang des larves inoculées avec **B. neurotomae**; elles phagocytent les autres éléments du sang. Celle figurée en a a phagocyté deux cellules dont le noyau est en état de pycnose

raissent jouer le rôle de macrophages vis à vis d'autres éléments du sang, principalement de ceux dont le noyau est en état de pycnose. Il est difficile de savoir si elles ont pour origine des macronucléocytes ou des micronucléocytes ; il semble cependant qu'elles ont plus d'affinité avec les premières qu'avec les autres.

## ACTION PATHOGÈNE DU MICROCOCCUS NEUROTOMÆ SUR LES INSECTES

Les larves de Neurotoma sont très sensibles à l'infection malgré l'intensité des réactions d'immunité et en particulier de la réaction phagocytaire. L'action bactéricide du sang, qui se manifeste chez certaines larves, détermine la transformation des éléments bacillaires en granules

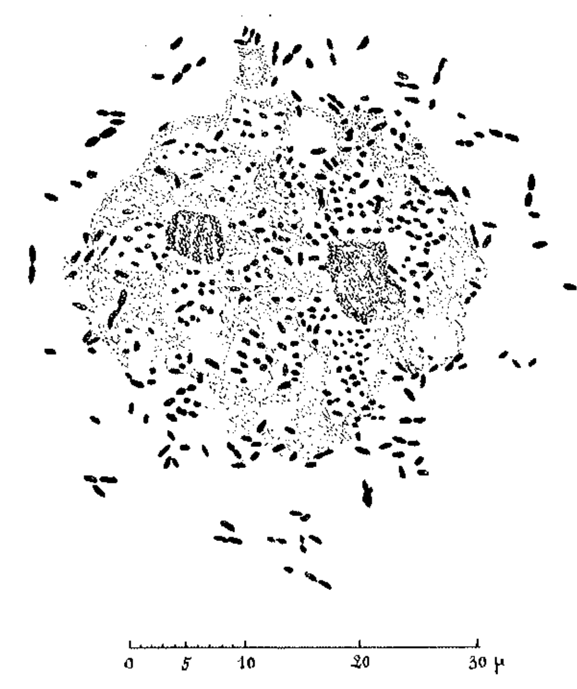


Fig. 173. — Phagocytose de M. neurotomae par micronucléocyte de larve de Neurotoma inoculée depuis 24 heures avec culture sur gélose de 16 jours.

et masses géantes ; la transformation n'est jamais totale et dans beaucoup de larves on ne constate pas la présence de granules ou de masses géantes. Les chenilles d'**Agrotis segetum** et **A. pronubana** opposent au contraire une résistance beaucoup plus grande à l'action pathogène du Micrococque. L'action humorale est prépondérante et se manifeste par la destruction bactériolytique des microbes ou par leur transformation en masses géantes. Le sang des chenilles immunisées contre les Micrococques acquiert la propriété de détruire **in vitro** les éléments de culture ;



mais on n'observe pas, comme dans le cas du sang des mêmes chenilles immunisées contre **B. melolonthæ non liquefaciens** : une transformation presque immédiate des Bactéries en granules ; cette transformation ne commence guère qu'après un contact de 30 minutes lorsque le mélange est maintenu à la température de 25°. D'autre part, elle n'est pas générale et, après une heure, on observe encore une proportion assez importante de Micrococques normaux, caractérisés par la coloration bipolaire. Si l'on ensemence sur gélose inclinée une goutte de l'émulsion, ces éléments normaux se multiplient et donnent naissance à des colonies. Mais le nombre des colonies est loin de correspondre au nombre des éléments microbiens en suspension dans le plasma ; l'action bactériolytique est donc indéniable, mais le processus est bien différent de celui que j'ai décrit en étudiant l'immunité des chenilles d'**Agrotis** contre certains Coccobacilles du Hanneton. Ce fait confirme l'opinion que j'avais émise sur la complexité des réactions humorales et sur la grande variété des processus immunitaires chez les Insectes.

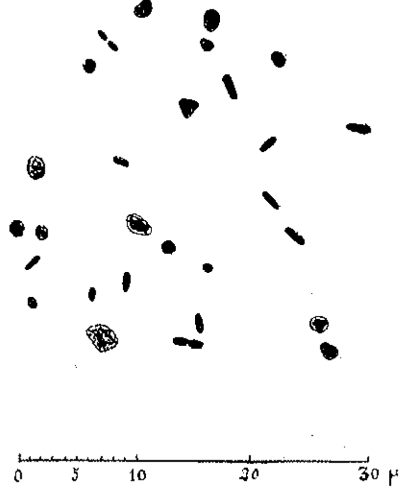


Fig. 174. — Réaction humorale dans le sang d'une larve de Neurotoma inoculée depuis 24 heures avec culture de M. neurotomae (culture de 16 jours).

## CONCLUSIONS

Comme on peut le constater d'après les expériences que j'ai faites, l'immunité antimicrobienne naturelle et acquise des Insectes est à la fois humorale et cellulaire, mais il n'est pas douteux que le rôle des réactions humorales est généralement plus important que celui des réactions cellulaires. C'est pourquoi j'ai cru pouvoir affirmer et j'affirme encore que la défense d'un Insecte contre les infections microbiennes est le plus souvent mieux assurée par l'action bactéricide du sang que par l'action phagocytaire des cellules sanguines. Dans les cas d'immu-

nité les plus typiques que j'ai étudiés, le rôle de la phagocytose apparaît beaucoup moins important que celui des réactions humorales ; dans beaucoup de cas, elle apparaît même subordonnée à l'action bactéricide du sang ; ainsi il n'est pas rare, et j'en ai cité plusieurs exemples au cours de cette étude, de constater l'augmentation d'intensité de la réaction phagocytaire à partir du moment où les Bacilles commencent à se transformer en granules.

Pour résumer mon opinion sur le rôle respectif des cellules et des humeurs, je dirai que la phagocytose ne peut être considérée, chez les Insectes, comme le « pivot de l'immunité antimicrobienne naturelle » ; réduite à elle-même, cette réaction est impuissante le plus souvent à enrayer l'infection ; dans la nature, elle accompagne généralement les réactions humorales, son rôle peut être assimilé à un rôle de soutien.

Cette opinion a été confirmée par Berthe PORCHET qui a longuement étudié l'action pathogène d'un Bacille acido-résistant des eaux, le **Mycobacterium aquæ**, sur différents Invertébrés. « La réaction humorale, conclut-elle, est prépondérante dans toute la classe des Insectes ; la phagocytose n'est qu'un adjuvant ».

Ce qui caractérise l'immunité humorale chez les Insectes, c'est la rapidité avec laquelle elle se manifeste dans le sang ; alors que chez les Vertébrés, il faut souvent des semaines pour mettre en évidence le pouvoir bactériolytique ou agglutinant du sérum contre certaines Bactéries, chez les Insectes, il suffit de quelques heures. Notons aussi comme différence fondamentale du mécanisme des réactions chez les Insectes et les Vertébrés, la formation des masses microbiennes géantes dans le sang de certaines chenilles immunisées contre différents Coccobacilles. Ce phénomène, qui ne paraît pas avoir été observé par d'autres auteurs, se produit assez fréquemment cependant pour attirer l'attention. Son importance résulte surtout du fait qu'il se produit chez les Aphides normalement infectés par différentes espèces de Coccobacilles (symbiose).

---

SIXIÈME PARTIE

# LA SYMBIOSE CHEZ LES PUCERONS

Un grand nombre d'êtres vivants appartenant aux groupes les plus divers sont normalement parasités par des microorganismes dont la plus grande partie appartiennent au groupe des Bactéries. La présence obligatoire de ces microorganismes dans les tissus a fait supposer qu'ils jouaient un rôle utile dans le métabolisme de l'hôte et c'est pour cette raison qu'on les a considérés comme des microorganismes symbiotiques. La symbiose dans la série des êtres vivants a été magistralement étudiée par P. BUCHNER et a fait l'objet d'un ouvrage d'ensemble publié en 1921 ; une réédition de cet ouvrage considérablement augmentée et profondément remaniée vient d'être publiée en 1930. Il ne saurait être question ici de reprendre toute l'étude de BUCHNER ; je me suis borné dans mes recherches à l'étude de la symbiose chez les Pucerons, me réservant par la suite d'étendre celles-ci à d'autres groupes d'Insectes.

Depuis longtemps, on a signalé, chez les Pucerons, l'existence d'amas cellulaires généralement colorés en vert, présentant le plus souvent l'apparence d'un organe. C'est LEYDIG, en 1850, qui, le premier,

attira l'attention sur cet organe singulier présent chez toutes les espèces d'Aphides. Il supposa qu'il jouait un rôle actif dans la nutrition mais ne put étayer son hypothèse sur des faits précis.

Quelques années plus tard, HUXLEY étudiait son origine et le désignait sous le nom de pseudo-vitellus à cause de la ressemblance des inclusions cellulaires avec les globules de vitellus. C'est sous ce nom qu'il a été généralement désigné par les auteurs anciens.

Étudiant le développement embryonnaire des Aphides, METCHNIKOFF put suivre les différentes phases du développement de l'organe à partir d'une cellule initiale qui se distingue de toutes les autres par sa coloration verdâtre et par la présence de granulations dans la couche cytoplasmique. Ces granulations représentaient pour lui quelque chose d'analogue au vitellus ; d'où le nom de **vitellus secondaire** sous lequel il désigna le pseudo-organe.

C'est une thèse toute différente qu'a soutenue BALBIANI : pour lui, la masse pseudovitelline ne joue aucun rôle actif dans la nutrition du germe mais représente un élément essentiel de son développement embryonnaire : c'est l'organe mâle ou « androblaste », l'élément femelle étant représenté par une masse cellulaire voisine non colorée. Dans cette masse testiculaire prennent naissance des éléments arrondis ou zoospermes qui féconderaient les ovules.

Cette thèse a été vivement combattue par CLAPAREDE qui se rallie à la thèse de METCHNIKOFF.

Dans une étude approfondie du développement embryonnaire des Pucerons, WITLACZILL a tout d'abord exprimé l'opinion que la masse pseudovitelline jouait un rôle d'excrétion analogue à celui que jouent les tubes de Malpighi et suppléait ces derniers qui manquent chez les Aphides; plus tard, il abandonna cette idée et considéra le pseudo-organe comme énigmatique.

Dans une note sur les Bactéries biophytes des Pucerons publiée en 1889, KRASSILSTSCHICK signala pour la première fois l'existence de Bactéries infectant normalement l'organisme de certaines espèces d'Aphides; ces Bactéries vivent en véritable symbiose avec l'hôte ; cependant l'auteur ne put préciser la nature du profit qu'en retire ce dernier. « Peut-être, dit-il, l'existence de cet organe problématique du pseudovitellus est due à la présence des Bacilles avec lesquels il est en relation ». Même les Bactéries qui remplissent le tractus intestinal de l'**Aphis platanoïdes** (peut-être s'agit-il de **Chaitophorus lyropictus**, Kess.) doivent



être considérées comme biophytes ; elles ont été observées par l'auteur dans le tractus des jeunes embryons.

HENNEGUY constate en 1904 l'incertitude qui règne parmi les biologistes sur la génèse et le rôle du pseudovitellus. « Il est impossible actuellement, conclut-il, de se prononcer sur la véritable signification de la masse polaire et de la masse verte des Aphidiens, dont l'existence et l'évolution constituent la particularité la plus remarquable de l'ontogénie de ces Insectes ».

FLÖGEL, STEVENS, comme les auteurs précédents, admettent que le pseudovitellus joue un rôle actif dans la nutrition de l'embryon.

C'est en 1910 que deux auteurs travaillant indépendamment l'un de l'autre, le Tchécoslovaque Karel SULC et l'Italien PIERANTONI découvrent simultanément la véritable signification de l'organe énigmatique des Aphidiens et d'autres Hémiptères homoptères : l'un et l'autre montrent que les inclusions cellulaires observées et figurées par les auteurs précédents sont de véritables microorganismes vivant en association étroite, autrement dit en symbiose, avec l'Insecte. Par leur forme et leur mode de développement, ces microorganismes se rapprocheraient des Levures. SULC admet que tous ceux qu'on rencontre chez les différentes espèces d'Aphides appartiennent à une même espèce : **Schyzosaccharomyces aphidis** nov. sp. Les cellules renfermant les microorganismes symbiotiques ou symbiotes sont désignées par lui sous le nom de mycétocytes ; les amas de mycétocytes, sous le nom de mycétome. Le même auteur a étudié la symbiose chez les différents groupes d'Hémiptères homoptères, notamment chez les Cicadides, les Psyllides, les Chermes, les Aleurodes et les Coccides ; chez tous, il a mis en évidence la présence de microorganismes intracellulaires appartenant à des espèces différentes de Saccharomycètes. D'après SULC, l'origine de la symbiose doit être cherchée dans une infection primitive du tube digestif par le Champignon. Après pénétration dans l'hémolymphe, le Champignon se fixe sur des cellules particulières, le plus souvent des cellules adipeuses qui se groupent ensuite pour donner naissance à un pseudo-organe. Au point de vue physiologique, SULC ne peut se prononcer sur la fonction des organes à symbiotes. Il constate tout d'abord que le Champignon ne produit pas une infection au sens pathologique du mot car on n'observe aucune lésion cellulaire dans l'organisme des Insectes infectés ; il y a donc commensalisme ou symbiose vraie ; dans le cas de commensalisme, on devrait observer des individus sans Champignon ; or ce n'est pas le cas ;

l'hypothèse doit donc être écartée. Le rôle possible des Levures symbiotiques doit être cherché, d'après SULC, dans une action de protection de l'hôte contre les infections bactériennes.

PIERANTONI, en 1910, montrait que chez les Coccides, les Aphides, les Cicadides, les inclusions cellulaires arrondies du pseudovitellus représentent les éléments de Champignons appartenant au groupe des Blastomycètes. Chez les Aphides, chez **Aphis brassicæ** par exemple, l'aspect microscopique de frottis colorés obtenus par dilacération de la masse verte, correspond à celui d'une préparation de Bactéries de la famille des Coccacées. Les microorganismes seraient cultivables sur pomme de terre où ils donneraient naissance à des colonies aplaties diversement colorées selon leur origine, c'est-à-dire, suivant l'espèce de Puceron d'où ils proviennent. Les microorganismes qui se développent en culture sont incontestablement des Blastomycètes. PIERANTONI a étudié le passage des microorganismes symbiotiques de la mère dans l'œuf et montré qu'ils s'accumulent au pôle postérieur de celui-ci.

D'après PIERANTONI, la symbiose héréditaire est un phénomène général chez les Hémiptères homoptères ; tous les individus de chaque espèce, sans exception, hébergent les Champignons symbiotiques. Les Insectes chez lesquels on observe la présence de ces microorganismes s'alimentent tous de la même manière : ils absorbent tous des amidons et des sucres. Les symbiotes paraissent contribuer à la transformation de ces hydrates de carbone; ce qui tendrait à donner plus de valeur à cette hypothèse, c'est que les organes à symbiotes sont richement aérés par tout un système trachéen. BUCHNER, dont les travaux sur la symbiose font autorité, a tout d'abord admis la thèse de SULC et de PIERANTONI sur la nature fongique des microorganismes symbiotiques ; par la suite, il a modifié sensiblement son opinion. Dans la deuxième édition de l'ouvrage qu'il a consacré à l'étude de la symbiose, BUCHNER admet que les symbiotes dérivent vraisemblablement de Bactéries. Cet auteur a d'ailleurs fait lui-même des observations sur la transformation de Bactéries en formes géantes chez les Insectes. Chez divers Cicadides, en particulier chez les Cixidées, il a montré que les microorganismes géants de l'organe à symbiotes désigné sous le nom d' « X-organ » (Figure 176) dérivent des formes bactériennes de l'organe rectal (cet organe n'existe que chez les femelles et participe seul à l'infection des œufs). « Ich ziehe daraus den Schluss, dit BUCHNER, dass die letzteren wirklich Microorganismen darstellen, aber nicht eine selbs-



tändige Symbiontensorte, sondern lediglich eine Wuchsform, die sich in beiden Geschlechtern aus der Infektionsform des Rectalorganes entwickelt, von welch letzterer sich aber ausserdem im weiblichen Embryo noch ein neues Rectalorgan ableitet, das hinsichtlich seiner Bewohner wesentlich ursprünglicher bleibt und daher allein als Brutstätte für weitere Infektionsformen in Frage kommt. »

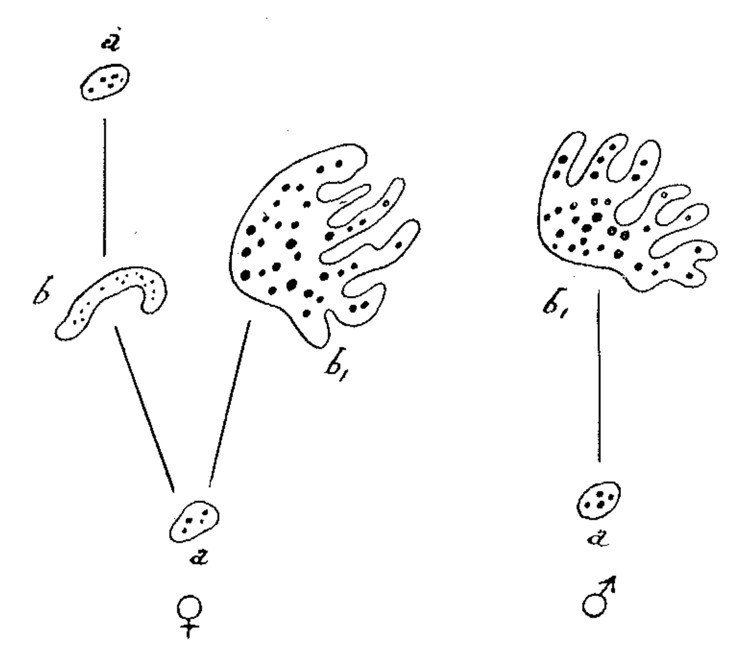



Fig. 175. — Schéma montrant les rapports entre les symbiotes des mycétomes rectal et filial dans les deux sexes (Fulgoridae). a, Formes d'infection; b, formes rectales; $b_1$, forme géante (d'après Buchner).

H. PFEIFFER étudiant la symbiose bactérienne de la Punaise des lits (**Cimex lectularius**) a montré que les symbiotes présentaient les formes les plus diverses, depuis la forme bactérienne typique (cocci, bâtonnets courts et filaments) jusqu'aux formes discoïdes semblables à celles qu'on observe dans les mycétocytes d'Aphides.

Les élèves de BUCHNER, KLEVENHUSEN en particulier, ont étudié plus spécialement les cas de symbiose mixtes, c'est-à-dire ceux qui sont caractérisés par la présence simultanée, dans un même organisme, de

symbiotes ordinaires et de Bactéries; ces dernières sont considérées comme des symbiotes accessoires sans rapport avec les symbiotes de forme arrondie, plus anciens, phyllogénétiquement, que les autres. Suivant

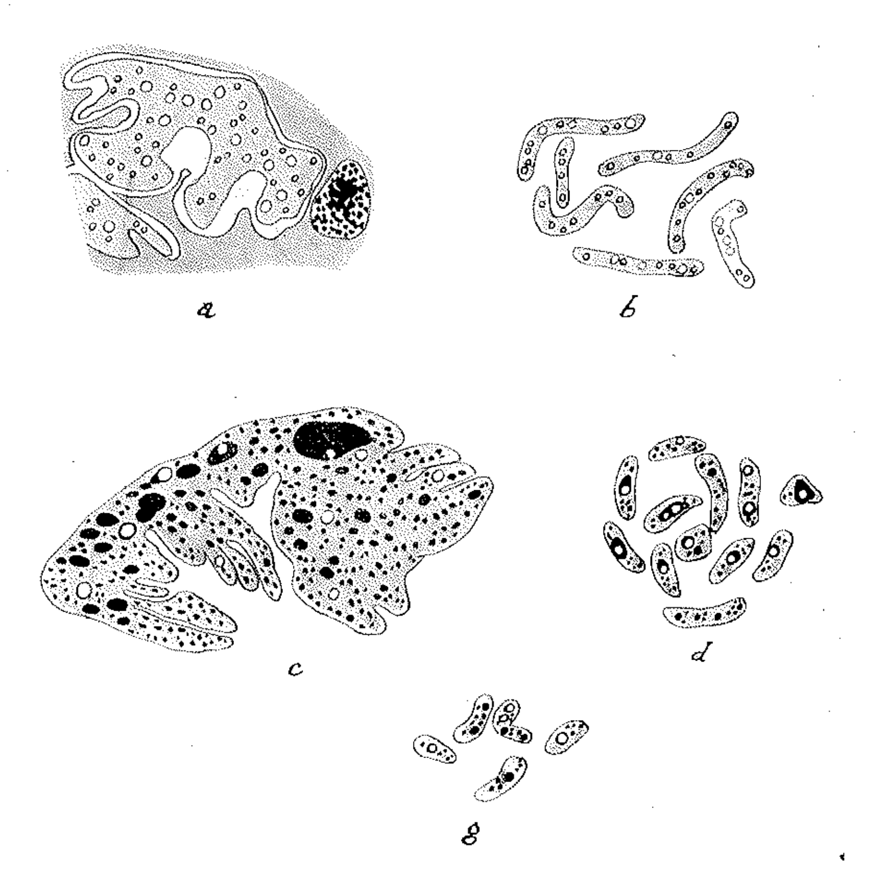


**Fig. 176. — Dictyophora europæa. a,** Inclusion du mycétome filial (« X-organ ») d'une jeune larve; **b,** symbiotes de l'organe rectal de la même larve; **c,** inclusion de l' « X-organ » d'une femelle adulte; **d,** symbiotes de l'organe rectal de la même femelle; **g,** formes d'infection dans l'organe rectal de la même femelle (d'après Buchner).

KLEVENHUSEN, les symbiotes accessoires présentent une série de caractères qui donnent l'impression qu'ils sont des hôtes d'introduction récente dans l'organisme des Aphides et que les processus d'adaptation aboutissant à une étroite symbiose ne sont pas encore achevés.



Un fait nouveau d'une grande importance a été mis en évidence par PEKLO en 1916 chez le Puceron lanigère : cet auteur a constaté la présence, dans le sang, de formes de passage intermédiaires entre les Bacilles symbiotiques et les symbiotes ordinaires intracellulaires ; c'est pour lui une preuve de l'origine bactérienne de ces symbiotes. Le pléomorphisme des Bactéries symbiotiques rappelle celui des **Azotobacter** (Bactéries des nodosités des Légumineuses). L'auteur établit un rapprochement entre les unes et les autres et considère les symbiotes du Puceron lanigère comme des formes modifiées d'une espèce d'**Azotobacter** adaptée à l'organisme de cet Insecte. PEKLO, comme PIERANTONI, aurait réussi à cultiver en goutte pendante les Bacilles symbiotiques. J'ai pu confirmer dès 1925 l'exactitude des observations faites par l'auteur Tchécoslovaque, excepté toutefois celle concernant la culture des Bacilles; j'ai fait depuis d'autres observations de même nature qui toutes démontrent l'origine bactérienne des symbiotes d'Aphides ; ces conclusions ne sont d'ailleurs plus contestées par BUCHNER ; mais la question que se pose maintenant cet auteur, c'est de savoir s'il existe un lien originel entre les Bactéries typiques et les symbiotes que l'on rencontre simultanément dans le même organisme. Jusqu'à preuve du contraire, BUCHNER admet que Bacilles et symbiotes sont essentiellement différents et que les formes de croissance des Bactéries qu'on peut observer chez différentes espèces de Pucerons, sont en réalité des formes de dégénérescence et non des formes de passage entre les Bactéries et les symbiotes.

Pour moi, au contraire, Bactéries et symbiotes ont bien une origine commune et la symbiose chez les Aphides doit être considérée comme un cas particulier d'immunité antimicrobienne naturelle. Telle est la thèse que je compte défendre au cours des chapitres qui vont suivre.

---

CHAPITRE XVIII

# Les Bactéries symbiotiques et les symbiotes globuleux ordinaires.

Dans beaucoup d'espèces de Pucerons, le mycétome ne renferme qu'une espèce de microorganismes : ce sont des éléments de forme généralement arrondie, dont l'aspect général ne varie guère d'une espèce à l'autre. Ce sont ces éléments qui ont été considérés généralement comme des Levures. Une telle assimilation ne reposait cependant sur aucune base solide : l'existence d'un noyau différencié ne peut être démontrée ; d'autre part, les caractères de la multiplication végétative ne présentent rien de commun avec le bourgeonnement qui caractérise le développement des Levures ; les éléments en voie de multiplication s'allongent et se divisent ensuite par la partie médiane comme des Microcoques ordinaires. Sur coupes colorées par l'hématoxyline ferrique ou par d'autres méthodes histologiques, les symbiotes se présentent sous l'aspect de masses arrondies de structure assez homogène ; souvent la partie centrale apparaît plus colorée que la région périphérique, mais il n'y a rien qui rappelle la forme et la structure d'un noyau ; la cause de cette pseudo-différenciation nucléaire doit être cherchée vraisemblablement dans la plus grande résistance présentée par la portion centrale de l'élément symbiotique à l'action décolorante de l'alun de fer ; il est possible aussi que cette portion centrale corresponde à une sorte de concentration cytoplasmique. Sur frottis colorés par le mélange de Giemsa l'aspect est tout différent ; on met parfois en évidence des granula-

tions chromatophiles ou basophiles dispersées sans ordre dans toute la masse de la cellule. Parfois aussi, la masse centrale des symbiotes apparaît colorée en pourpre alors que le pourtour est coloré en bleu pâle ; ils sont identiques alors aux formes de croissance arrondies que produisent certains Coccobacilles entomophytes dans la cavité générale de chenilles diverses en état d'immunité. Le rapprochement entre les deux sortes de microorganismes s'impose donc. L'étude du mécanisme de la symbiose chez les espèces de Pucerons pourvues à la fois de Bactéries et de symbiotes ordinaires justifiera davantage encore le rapprochement.

## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DU PUCERON LANIGÈRE (ERIOSOMA LANIGERUM, HAUSMANN)

Nous avons vu que PEKLO avait signalé l'existence simultanée de symbiotes arrondis, de Bacilles et de formes de passage dans l'organisme du Puceron lanigère. Dans le mémoire qu'il a consacré à l'étude du Puceron lanigère, P. MARCHAL a constaté tout d'abord que la répartition des Bactéries symbiotiques était généralisée aux tissus mésodermiques ; « frappé d'autre part, ajoute-t-il, de la coexistence constante chez le Puceron lanigère des Bactéries éparses et des microorganismes globuleux bourrant les mycétocytes ; intéressé aussi par le polymorphisme que semblaient présenter ces Bactéries, j'ai demandé en 1924 à M. A. PAILLOT qui s'occupe spécialement de la microbiologie des Insectes, d'examiner cette question en recherchant notamment s'il n'y aurait pas une relation phylétique entre les deux formes ». Ainsi ai-je été amené à étudier le

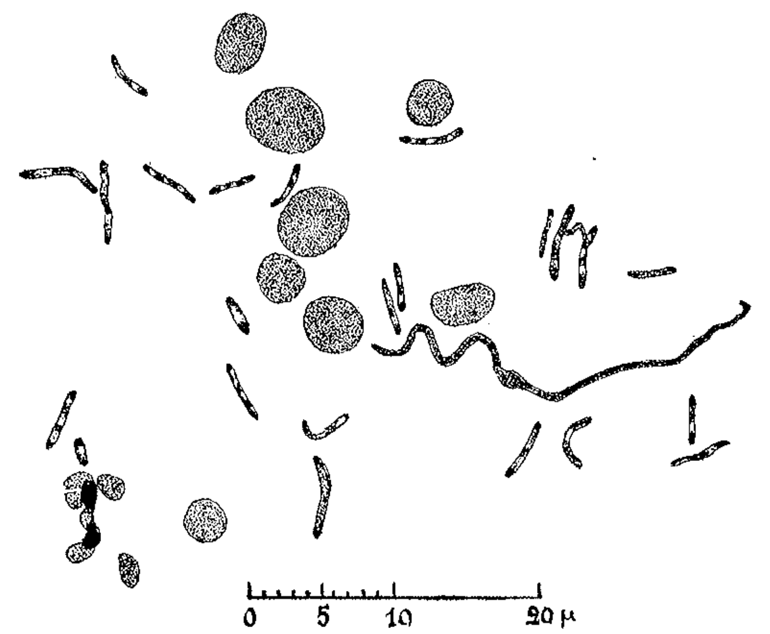


Fig. 177. — Microorganismes symbiotiques de Puceron lanigère (Eriosoma lanigerum) ; champ microscopique de frottis coloré au Giemsa.



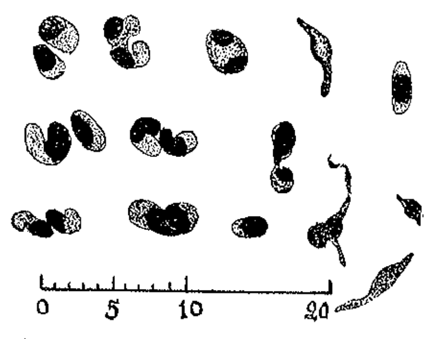


Fig. 178. — Formes de croissance de Bacilles symbiotiques de Puceron lanigère. Coloration au Giemsa.

mécanisme de la symbiose chez les Pucerons. Sans avoir eu connaissance tout d'abord des travaux de PEKLO, j'ai été tout de suite frappé, comme cet auteur, par la présence de formes de croissance identiques à celles que j'avais observées dans le sang de chenilles en état d'immunité antibactérienne. Et cependant, ces formes de croissance sont relativement peu nombreuses. Au point de vue de la thèse que je défends ici, l'exemple du Puceron lanigère est loin d'être le plus démonstratif. J'ai représenté dans la figure 177 un champ microscopique de frottis de Puceron entier dilacéré sur lame de verre et coloré par le mélange de Giemsa après dessication et fixation rapide par l'alcool méthylique absolu. Les Bactéries, comme l'avait constaté P. MARCHAL, sont assez polymorphes ; un des éléments est filamenteux et présente un renflement qui peut être considéré comme l'origine d'une forme arrondie. Les Bacilles les plus courts présentent la coloration bipolaire. J'ai représenté dans la figure 178 quelques formes de passage parmi les plus typiques observées çà et là sur un même frottis et des symbiotes qui, par leurs caractères morphologiques, peuvent être considérés comme des Bactéries en voie d'adaptation défini-

tive. La partie centrale est colorée en pourpre par le Giemsa et simule un véritable noyau ; par division simple, la masse pseudo-nucléaire se répartit également entre les deux cellules-filles.

## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DU PUCERON DE L'ORME (TETRANEURA ULMI, DE G.)

Comme chez le Puceron lanigère, on trouve deux sortes de symbiotes mais les formes bactériennes ne sont pas libres dans le sang ; elles sont incorporées dans le mycétome.

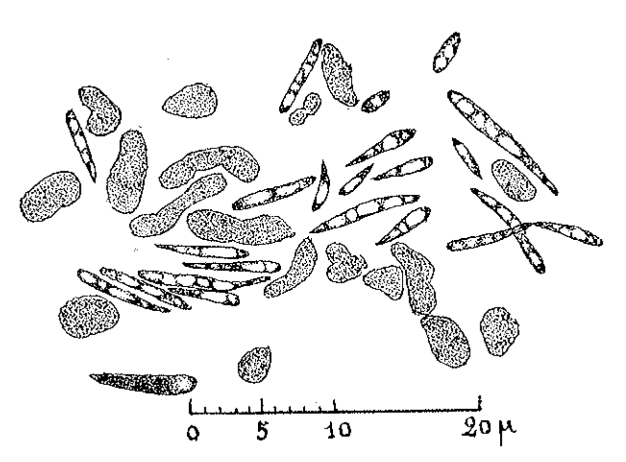



**Fig. 179.** — Microorganismes symbiotiques de **Tetraneura ulmi**; frottis coloré au Giemsa.

Sur frottis coloré par le Giemsa, les Bacilles se présentent sous la forme d'éléments plus ou moins allongés dont l'une des extrémités est souvent amincie ; le corps bacillaire se colore surtout à la périphérie et suivant des travées transversales qui délimitent des vacuoles. Les plus petits éléments sont des Coccobacilles typiques. La figure 179 représente un champ microscopique de frottis dessiné à la chambre claire. Le Bacille représenté en bas de la figure doit être considéré comme une forme de passage. En général, ces formes de passage sont rares. Les symbiotes ordinaires sont de forme assez variable : les uns sont arrondis ; les autres, plus ou moins allongés et de forme assez irrégulière.



## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DU PUCERON DE LA TANAISIE (MACROSIPHUM TANACETI, L.)

Le mécanisme de la symbiose chez les Pucerons de la Tanaisie a été étudié en détail par KLEVENHUSEN. Deux espèces voisines ont été examinées par l'auteur allemand : **Macrosiphum tanaceti** et **M. tanaceticola**; mais les microorganismes symbiotiques sont les mêmes dans l'une et l'autre espèce. Ils sont représentés, d'après lui, par des symbiotes globuleux et par des Bacilles filamenteux mesurant 20 et même 30 µ de long. Mes observations propres diffèrent sensiblement de celles de KLEVENHUSEN. Sur frottis colorés au Giemsa, on constate bien l'existence de formes filamenteuses mesurant jusqu'à 30 et même 60 µ de long, mais la plus grande partie des éléments bacillaires ne mesurent guère que 4 à 6 µ de long sur 1,5 µ d'épaisseur. Quelle que soit la provenance des Pucerons, les formes courtes sont de beaucoup les plus nombreuses et doivent être considérées comme le type morphologique normal. C'est

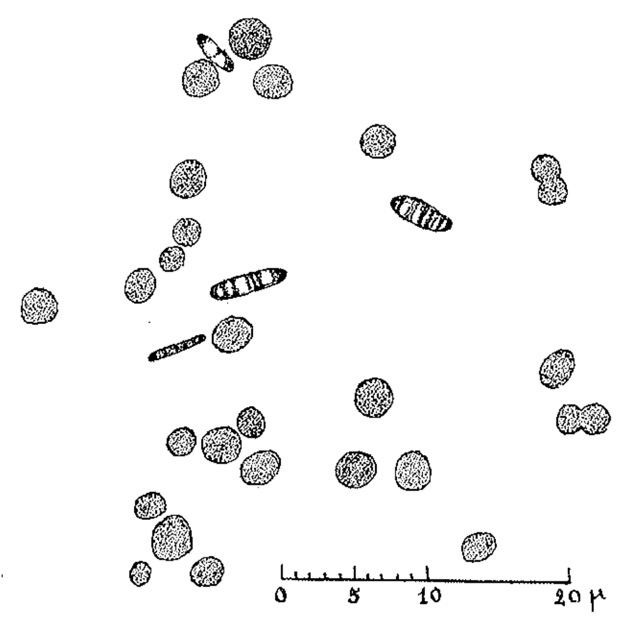



**Fig. 180.** — Microorganismes symbiotiques de **Macrosiphum tanaceti**; champ microscopique de frottis coloré au Giemsa.

ainsi que des Pucerons récoltés à Genève et à Lyon ont donné des résultats identiques au point de vue de la proportion des formes courtes et des formes longues.

Après coloration par le Giemsa, les éléments bacillaires se présentent sous l'aspect de gros bâtonnets à bouts arrondis dont la portion centrale est très souvent légèrement renflée, ce qui leur donne une forme elliptique allongée (fig. 180) ; la coloration de la masse n'est pas homogène ; seuls les contours sont bien colorés ainsi que des bandes transversales en nombre variable suivant la longueur des éléments.

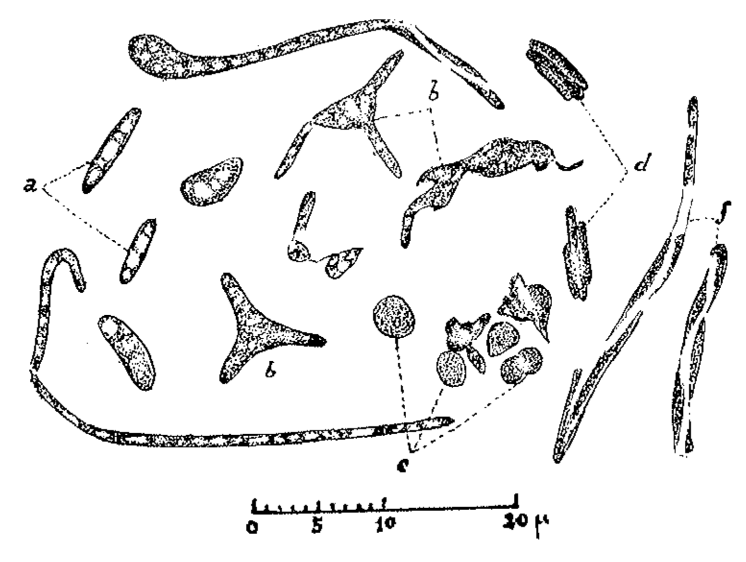



**Fig. 181.** — Bacilles symbiotiques de **M. tanaceti** et formes de passage. **a**, Bacilles normaux ; **b**, formes de passage ; **c**, symbiotes globuleux ; **d**, coalescence de plusieurs Bacilles normaux ; **f**, division longitudinale de formes filamenteuses.

Les formes de croissance, qui représentent les stades intermédiaires entre les Bacilles normaux et les symbiotes globuleux, sont remarquablement nombreuses à certains stades d'évolution du Puceron, en particulier, chez les femelles ovipares de la génération sexuée d'automne. Les formes les plus diverses peuvent être observées ainsi qu'on peut le constater d'après la figure 181 ; on retrouve là toutes les formes que j'ai observées dans le sang de certaines chenilles inoculées avec divers Coccobacilles entomophytes. L'aspect des frottis donne bien l'impression que des réactions humorales interviennent au cours de l'évolution de l'Insecte pour limiter l'invasion bacillaire.



Les Bacilles filamenteux se multiplient suivant un mode particulier qui ne paraît pas avoir été signalé jusqu'ici chez les Bactéries : le filament se clive longitudinalement en donnant naissance à plusieurs fragments plus ou moins allongés, d'aspect fusiforme le plus souvent (**f**). J'ai observé également la formation de masses géantes par coalescence de plusieurs éléments bacillaires disposés côte à côte (**d**), ce qui constitue également un phénomène non décrit jusqu'ici.

Bacilles et formes de passage se rencontrent en plus ou moins grande abondance dans le sang, mais surtout à l'intérieur des cellules sanguines disséminées dans la cavité générale ou accumulées dans le voisinage du mycétome ; ils forment aussi des amas volumineux à la surface des mycétocytes.

Le polymorphisme des Bactéries symbiotiques de **M. tanaceti** ne doit pas être considéré comme une propriété particulière de cette espèce bactérienne ainsi qu'on l'admet par exemple pour les bactéroïdes des nodosités radiculaires de Légumineuses (**Azotobacter**). La tendance à changer de forme est au contraire un phénomène assez général chez les Bactéries ; c'est une conséquence de la grande plasticité de la cellule bactérienne, plasticité que j'ai bien mise en évidence en étudiant les maladies bactériennes des Insectes. Qu'elle soit particulièrement développée chez les Bacilles symbiotiques de Pucerons depuis longtemps adaptés à la vie parasitaire dans une espèce déterminée, il n'y a rien là qui doive surprendre. Mais le polymorphisme a surtout pour cause l'action exercée par le milieu vivant dans lequel se développe la cellule bactérienne. L'action du milieu sanguin rentre dans la catégorie des phénomènes d'immunité ; elle varie d'intensité suivant le stade de développement du Puceron, suivant les phases du cycle biologique et peut-être aussi suivant la température.

## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DU PUCERON NOIR DU PLANTAIN (APHIS SP.)

On observe fréquemment en été, sur **Plantago major,** et plus particulièrement vers le sommet de la hampe florale, des colonies de Pucerons noirs ressemblant à celles du Rumex ou du Chénopode ; je n'ai

pu identifier jusqu'ici cette espèce avec une espèce connue ; elle diffère

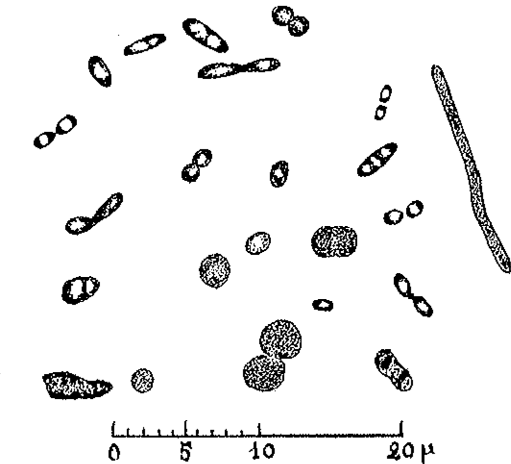



**Fig. 182.** — Bacilles symbiotiques, formes de passage et symbiotes globuleux du Puceron noir du Plantain.

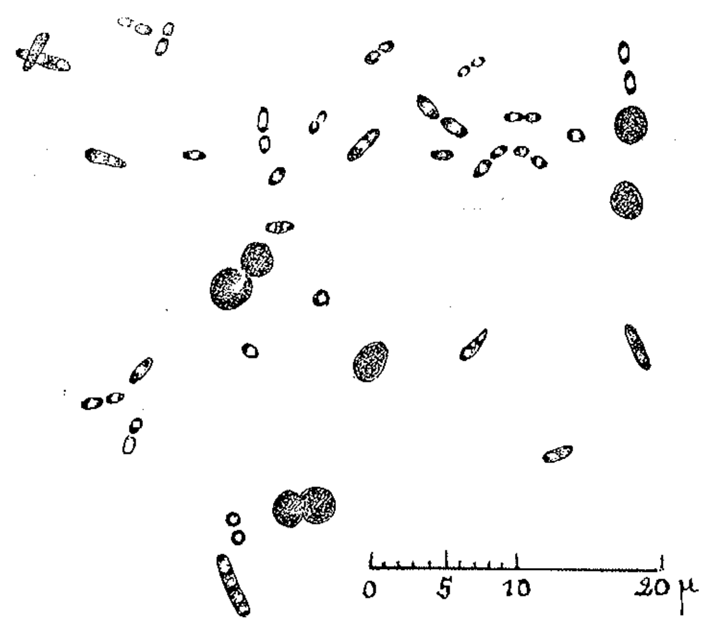



**Fig. 183.** — Microorganismes symbiotiques du Puceron noir du Plantain; champ microscopique de frottis coloré au Giemsa.

certainement de l'espèce parasite du Pommier (**Aphis sorbi**) qui, d'après les auteurs américains, émigre en été sur Plantain.



Les Bactéries symbiotiques qu'on trouve dans la cavité générale et même à l'intérieur de certaines cellules adipeuses, sont des Coccobacilles typiques ; quelques-uns sont allongés et même filamenteux. J'ai représenté dans la figure 182 les principales formes qu'on peut observer sur frottis ; tous les passages existent entre le Coccobacille normal et les symbiotes globuleux.

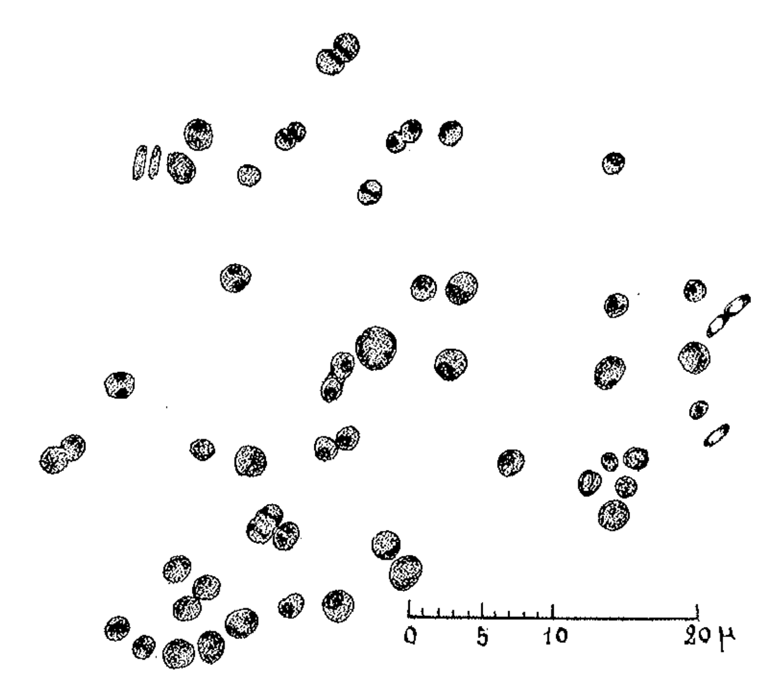



**Fig. 184.** — Microorganismes symbiotiques du Puceron noir du Plantain; champ microscopique observé sur le même frottis que celui de la figure précédente.

La densité des éléments bactériens n'est pas homogène sur toute la surface des frottis ainsi qu'on peut s'en rendre compte d'après les figures 183 et 184 qui représentent deux champs microscopiques choisis dans deux régions différentes d'un même frottis. On peut constater aussi que les symbiotes globuleux représentés dans la figure 182 semblent pourvus d'un noyau central.

## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DU PUCERON NOIR DU CHENOPODE (APHIS ATRIPLICIS, L.)

Les Bactéries symbiotiques normales paraissent avoir été observées pour la première fois en 1888 par KRASSILSTSCHICK ; elles sont représentées par des éléments bacillaires fusiformes mesurant en moyenne 4 à 5 μ de long sur 0,6 à 0,7 μ de large ; après coloration par le Giemsa, la partie moyenne apparaît claire, le colorant se fixant seulement aux deux extrémités.

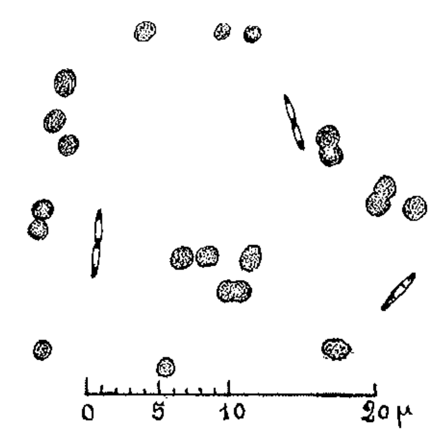



**Fig. 185.** — Bacilles symbiotiques et symbiotes globuleux de jeune larve d'*Aphis atriplicis*; champ microscopique observé sur frottis coloré au Giemsa.

De grandes variations peuvent être observées dans le degré d'infestation des Pucerons suivant le stade de développement et l'époque à laquelle ils vivent. Sur frottis obtenus à partir de très jeunes femelles parthénogénétiques et colorés par le Giemsa, les Bacilles sont relativement peu nombreux et de taille assez homogène ; chez les femelles adultes au contraire, ces mêmes Bacilles sont souvent extrêmement abondants et l'aspect des frottis correspond à celui d'un Insecte en état d'infection microbienne avancée. Je n'ai pu déterminer la cause de l'aggravation de l'infection bactérienne ; mais il y a tout lieu de supposer que cette aggravation est sous la dépendance de facteurs intrinsèques plutôt que sous celle de facteurs atmosphériques.



Sur frottis obtenus par dilacération sur lame de verre de Pucerons fortement infectés, on observe, après coloration au Giemsa, de très grandes variations dans la forme et les dimensions des éléments bactériens ainsi que dans leur colorabilité (fig. 185) ; à côté d'éléments bacillaires normaux présentant les caractères morphologiques décrits plus haut, on observe des éléments de plus en plus ténus jusqu'à la limite de visibilité; vers cette limite, les Bacilles sont très mal colorés et ne présentent pas de contours nets: il s'agit là, très vraisemblablement,

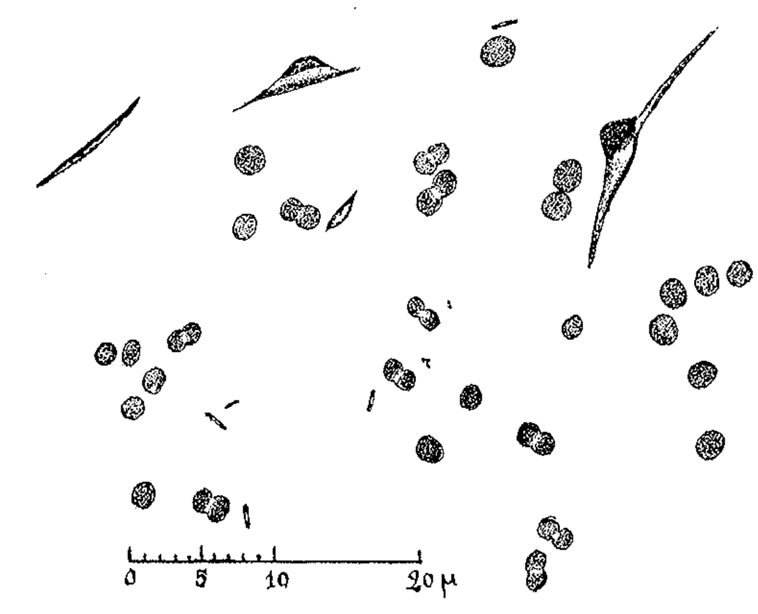



**Fig. 186.** — Bacilles symbiotiques, formes de passage et symbiotes globuleux d'*Aphis atriplicis* ; champ microscopique observé sur frottis de femelle vivipare adulte coloré au Giemsa.

d'éléments microbiens en voie de lyse; les progrès de l'infection seraient donc enrayés par une réaction de défense de type essentiellement humoral. Ce n'est d'ailleurs pas la seule qu'on observe : sur les mêmes frottis, en effet, on constate la présence de Bacilles géants mesurant 10 à 15 μ de long dont la partie médiane se renfle pour donner naissance à une forme géante analogue à celles qui ont été déjà décrites chez d'autres espèces de Pucerons et qui donnent naissance aux symbiotes globuleux

ordinaires par résorption des prolongements bacilliformes. L'étude histologique et cytologique du mécanisme de la symbiose montrera que cette transformation est surtout intense à l'intérieur de certaines cellules.

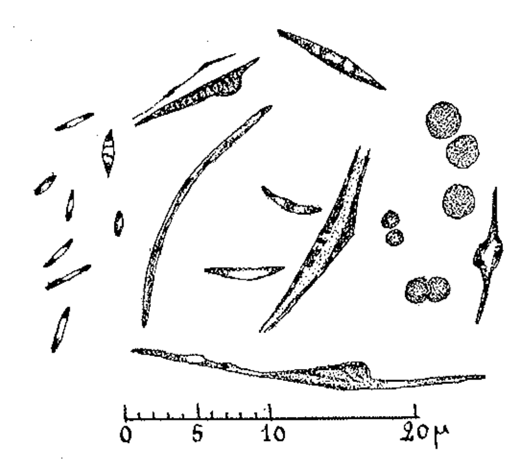



**Fig. 187.** — Bacilles normaux, formes de passage et symbiotes globuleux d'*Aphis atriplicis* adulte.

## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DU PUCERON VERT DE L'ÉRABLE (DREPANOSIPHUM PLATANOIDES, SCHRK.)

La présence de Bactéries symbiotiques paraît avoir été signalée par KRASSILSTSCHICK, mais on ne peut avoir de certitude à ce sujet puisque l'espèce étudiée par cet auteur est désignée sous le nom d'**Aphis platanoïdes.** Beaucoup d'auteurs ont choisi le **Drepanosiphum** comme objet d'étude, mais beaucoup d'erreurs ont été commises aussi bien dans le mécanisme de la symbiose que dans l'évolution embryogénique de l'Insecte. L'espèce étudiée par BUCHNER n'a pas été déterminée, mais on peut douter qu'il s'agisse du **Drepanosiphum platanoïdes,** car il n'est fait aucune mention des Bactéries symbiotiques et les symbiotes ordinaires sont représentés comme des masses régulièrement arrondies alors qu'elles sont de forme très différente.

Après coloration de frottis de Puceron par le mélange de Giemsa, on distingue :



1° Des éléments filamenteux très allongés en général, présentant sur leur trajet des renflements de forme et de grosseur extrêmement variables. De tels éléments parasitaires n'avaient jamais été décrits jusqu'ici chez les Aphides ; ils ne présentent rien de commun avec les formes dites levures que l'on observe généralement chez la plupart de




**Fig. 188.** — Bacilles symbiotiques, formes de passage et symbiotes ordinaires de **Drepanosiphum platanoïdes.**

ces Insectes à l'intérieur des mycétocytes. Sur coupes, ils peuvent avoir parfois l'apparence de corps globuleux, mais l'aspect est néanmoins très différent de celui qui a été figuré par BUCHNER;

2° Des Coccobacilles plus ou moins allongés et de taille très variable, tels que ceux de la figure 188 qui représente un champ microscopique moyen où se trouvent réunies les deux sortes de microorganismes symbiotiques. L'aspect des frottis donne l'impression qu'on a affaire à deux infections bien distinctes : l'une bactérienne, l'autre fongique. Les symbiotes des mycétocytes ressemblent en effet au mycélium d'un Champignon bien plus qu'à des Bactéries cocciformes géantes ou des formes levures. Et cependant, l'étude de certains stades

de développement du Puceron démontre que la forme mycélienne a pour origine les Bacilles du sang. Si l'on examine en particulier des frottis d'œufs d'hiver après coloration au Giemsa, on constate la présence de courts filaments issus directement des Bacilles; les filaments s'allongent, se renflent en certains points, émettent même des ramifi-

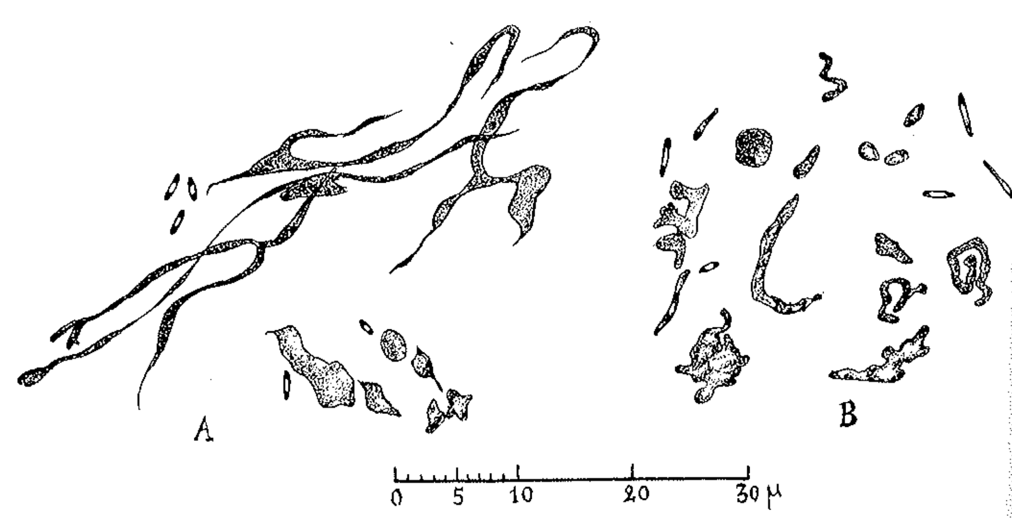



Fig. 189. — Microorganismes symbiotiques de **D. platanoïdes**; A, femelle vivipare; B, œuf d'hiver (transformation des Bacilles en formes symbiotiques ordinaires).

cations et donnent ainsi naissance aux symbiotes tels qu'on peut les observer à l'intérieur des mycétocytes de la larve ou de la femelle adulte. En étudiant sur coupes le mécanisme de la symbiose nous verrons que les Bactéries avec les formes de passage constituent des masses caractérisées par leur sidérophilie beaucoup plus accentuée que celle des symbiotes ordinaires (Fig. 278). Ces faits constituent une démonstration éclatante de l'identité d'origine des symbiotes et des Bactéries qui infectent normalement l'organisme du Drepanosiphum.

## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DU PUCERON DE LA CENTAURÉE (MACROSIPHUM JACEÆ, L.)

Les deux sortes de microorganismes symbiotiques qu'on rencontre chez cette espèce d'Aphide ont été observées par Klevenhusen qui les considère comme deux espèces symbiotiques essentiellement différentes.



Les éléments bactériens sont décrits comme de courts filaments mesurant 8 µ de long et 1,5 à 2 µ d'épaisseur. D'après cet auteur, les symbiotes globuleux présenteraient, sur préparations colorées, une structure granuleuse et striée ; souvent, les granules seraient condensés en une sorte de noyau central.

Sur frottis coloré par le Giemsa, on met effectivement en évidence des éléments bacilliformes et des symbiotes globuleux, mais les premiers

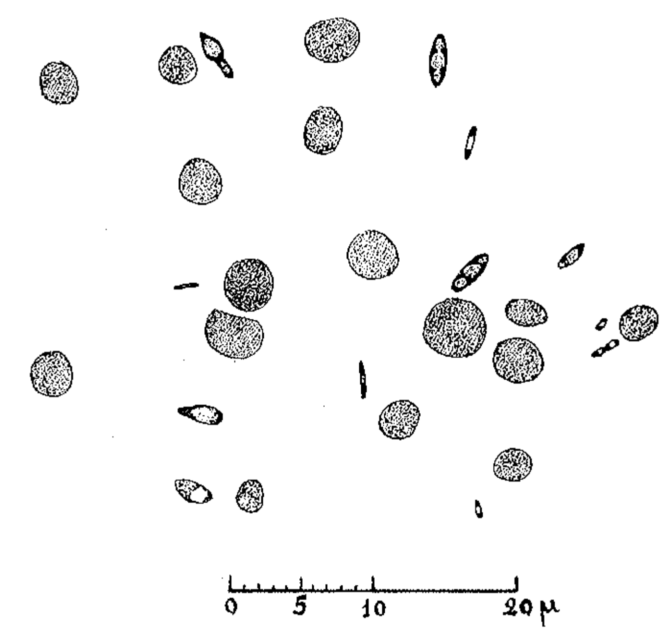



Fig. 190. — Microorganismes symbiotiques de **Macrosiphum jaceæ**. Champ microscopique observé sur frottis coloré au Giemsa.

sont plus courts que ceux décrits par Klevenhusen ; ils mesurent en moyenne 2 à 3 µ de long sur 0,6 à 0,7 µ de large. Ce sont des Coccobacilles plus ou moins allongés présentant la coloration bipolaire. Comme on peut s'en rendre compte d'après la figure 190, ils sont très polymorphes. Outre les formes arrondies ordinaires et les éléments bacillaires normaux, on observe des formes de passage non signalées par Klevenhusen : il s'agit de véritables Coccobacilles géants ayant tendance à se renfler à l'une de leurs extrémités. La proportion des formes de passage varie d'un individu à l'autre. Au point de vue cytologique,

ces éléments sont caractérisés par la présence d'une couche corticale mince fortement colorable ; ils apparaissent très souvent constitués de deux parties, l'une généralement plus grosse que l'autre et séparée de celle-ci par une cloison fortement teintée comme la couche corticale. Sur coupes colorées par la méthode de Kull après fixation par le bichromate-formol de Regaud ou le formol salé, les formes de passage se détachent très nettement des symbiotes globuleux grâce à leur fuchsinophilie. Sur coupes fixées par les méthodes ordinaires et colorées par l'hématoxyline ferrique, elles restent colorées en noir foncé.

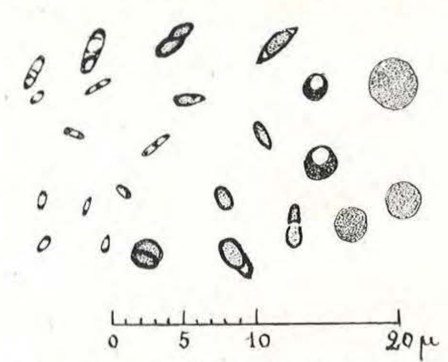


Fig. 191. — Bacilles symbiotiques, formes de passage et symbiotes globuleux de M. jaceæ.

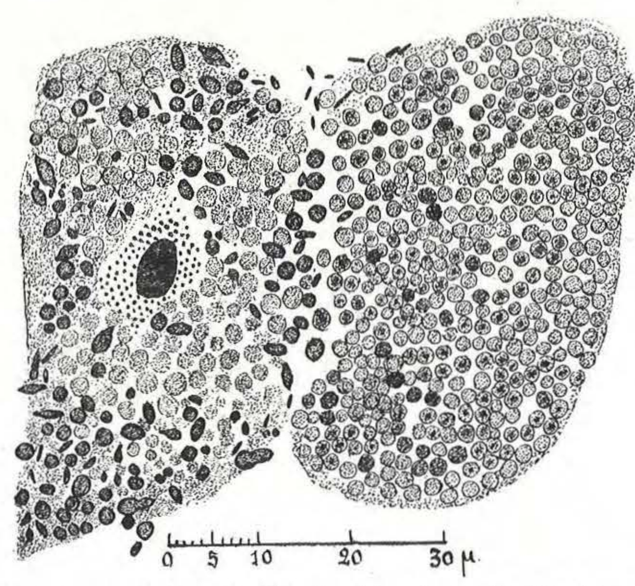


Fig. 192. — Mycétocytes de M. jaceæ (femelle vivipare) avec Bacilles, formes de passage et symbiotes globuleux. Fixation au Helly, coloration à l'hématoxyline ferrique.

L'exemple du **M. jaceæ** est un des plus démonstratifs que je puisse citer à l'appui de la thèse de l'identité d'origine des Bactéries et symbiotes globuleux. En voyant la coupe d'un mycétocyte tel que celui figuré ci-contre (fig. 192), on ne peut mettre en doute que les symbiotes globuleux tirent leur origine des Bactéries d'infection normale. Et qu'on ne s'imagine pas avoir affaire ici à un cas exceptionnel ; dans tous les Pucerons examinés à certains stades déterminés de leur existence et quelle que soit leur origine (ceux que j'ai étudiés provenaient de la région lyonnaise, de l'Ain et du Jura) les mêmes figures peuvent être observées. On peut s'étonner qu'une particularité aussi frappante ait échappé aux investigations de Klevenhusen. Peut-être les Pucerons examinés par lui étaient-ils différents, symbiotiquement, de ceux que j'ai examinés moi-même, mais l'explication n'est guère vraisemblable et s'accorde mal avec ce que l'on connaît de la constance des processus symbiotiques pour une même espèce de Puceron.



## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DU PUCERON DU NOYER (PTEROCALLIS JUGLANDICOLA, KALT.)

C'est encore là une espèce dont le mécanisme de la symbiose a fait l'objet d'observations minutieuses de la part de Klevenhusen. Les « symbiotes accessoires » sont décrits sous la forme de filaments mesurant 15 μ de long sur 1 μ 1/4 d'épaisseur. Là encore, aucune forme de passage n'est signalée ; Klevenhusen a cependant constaté que, dans

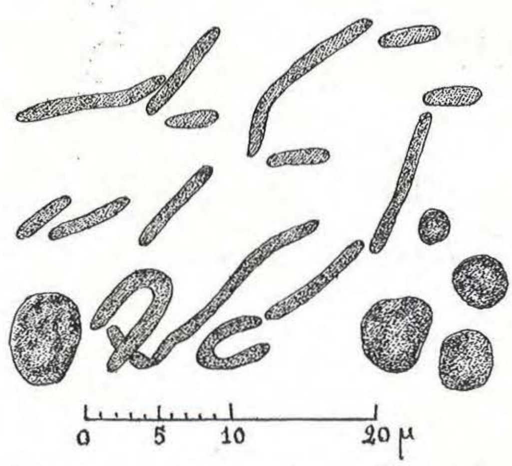


Fig. 193. — Bacilles symbiotiques et symbiotes globuleux de Pt. juglandicola. Femelle vivipare récoltée le 7 juillet 1931.

les œufs, il n'existe pas de filaments allongés mais seulement quelques bâtonnets ; les bâtonnets se rencontrent aussi dans les individus sexués.

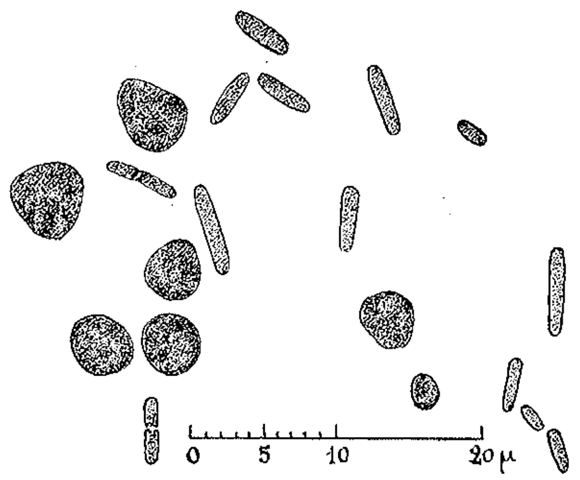



**Fig. 194.** — Bacilles symbiotiques (formes courtes) et symbiotes globuleux de **Pt. juglandicola.** Frottis de femelle ovipare récoltée le 10 octobre (champ microscopique).

J'ai représenté dans les figures 193 et 194 deux aspects de frottis; l'un de Puceron vivipare récolté en juillet ; l'autre, de femelle ovipare ré-

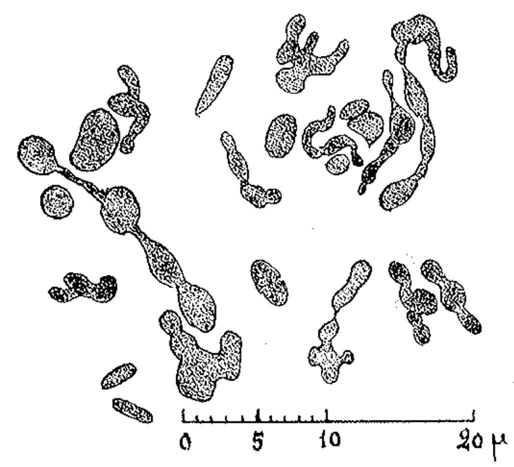



**Fig. 195.** — Bacilles et formes de passage observés sur frottis de femelle vivipare de **Pt. juglandicola** récoltée le 31 octobre (champ microscopique).

coltée en octobre. On voit que l'aspect de ce dernier correspond assez exactement à la description de l'auteur allemand, mais ce qu'il n'a pas



vu, c'est qu'à certains stades de l'existence du Puceron, en particulier chez les femelles ovipares adultes, une proportion très importante de filaments bactériens donnent naissance à des formes de croissance qui se transforment finalement en symbiotes globuleux. La figure 193 représente un champ microscopique d'un frottis obtenu par dilacération de femelle ovipare récoltée le 31 octobre, c'est-à-dire pendant la période de ponte. On ne peut mettre en doute, ici encore, l'identité d'origine des symbiotes globuleux et des Bacilles.

## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DU PUCERON VERT DU ROSIER (SIPHONOPHORA ROSÆ, L.)

Uichanco a fait une étude minutieuse du développement embryogénique de cette espèce de Puceron, mais on ne relève dans son travail

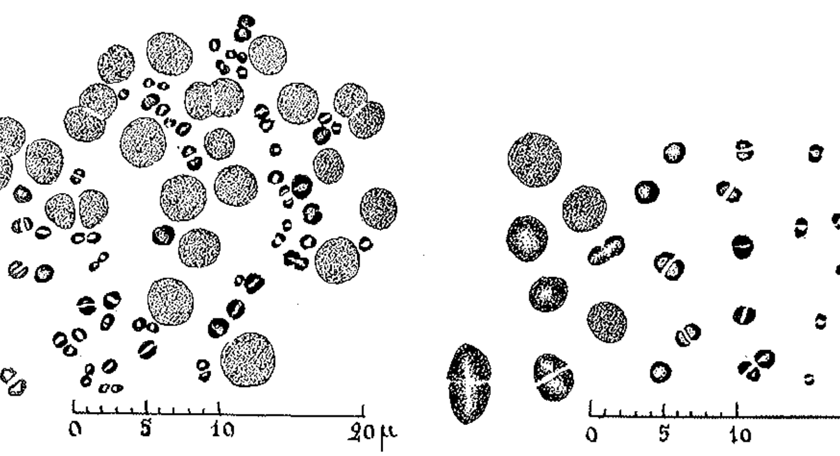



**Fig. 196.** — Microcoques, formes de passage et symbiotes normaux de **Siphonophora rosae**; champ microscopique observé sur frottis de femelle vivipare coloré au Giemsa.

**Fig. 197.** — Microcoques, formes de passage et symbiotes ordinaires de **S. rosae.**

aucune observation intéressante sur les microorganismes symbiotiques. Contrairement à ce qui se passe chez beaucoup d'autres espèces d'Aphides, les Bactéries d'infection normale sont représentées, non par des Coccobacilles ou des éléments bacilliformes, mais par des cocci ressemblant à des Staphylocoques ; cependant, elles se décolorent par la méthode de Gram. Sur coupes colorées par l'hématoxyline ferrique, les

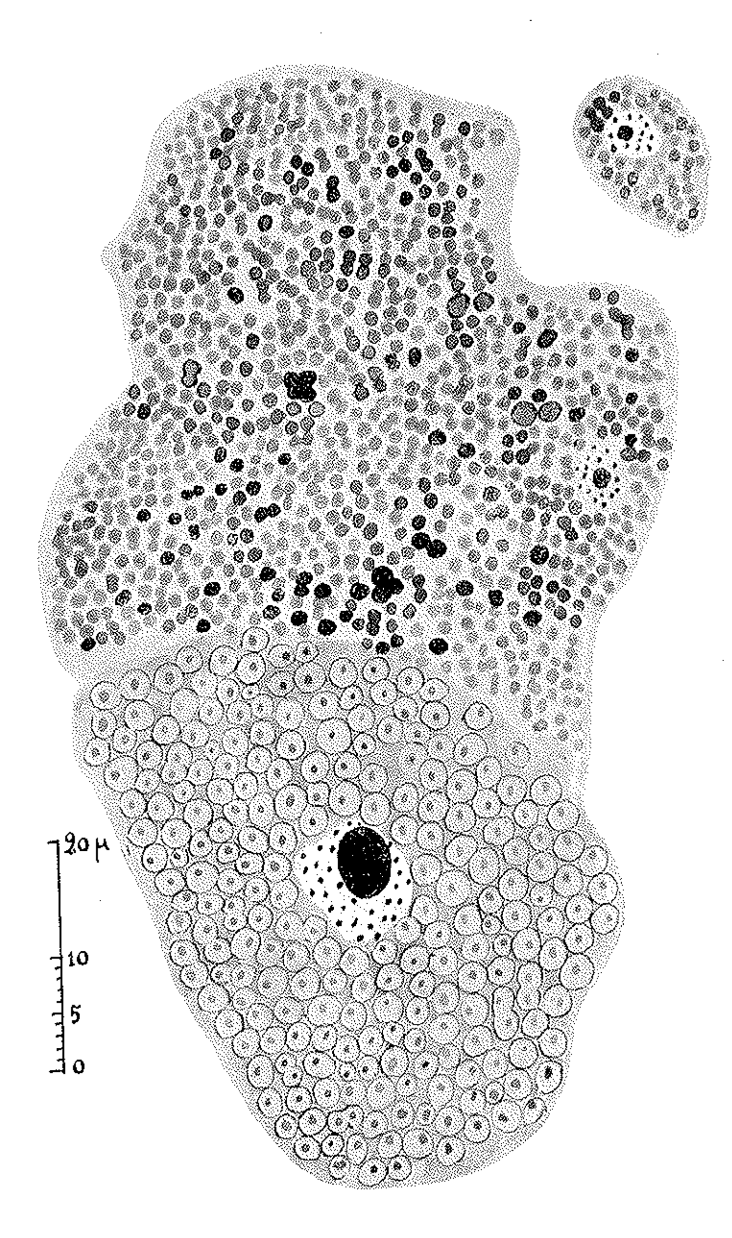



Fig. 198. — Coupe à travers deux mycétocytes de femelle vivipare de S. rosae; fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline ferrique.



cocci apparaissent teintés en noir et se détachent nettement des symbiotes globuleux qui sont teintés en gris clair. Sur frottis, les cocci sont souvent disposés en grains de café comme les Méningocoques ou les Gonocoques ; la membrane externe est plus fortement teintée que la partie centrale. Entre les cocci et les symbiotes globuleux, on observe toutes les formes de passage. La figure 196, reproduite d'après un champ microscopique observé sur frottis coloré par le Giemsa, montre très nettement l'origine bactérienne des symbiotes globuleux.

## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DU PUCERON NOIR DE LA GRANDE OSEILLE (APHIS RUMICIS, L.)

Sur frottis coloré par le Giemsa, on distingue des éléments arrondis colorés en bleu, de grosseur très variable, qui représentent les symbiotes ordinaires ; des Bacilles très épais plus ou moins allongés, sans

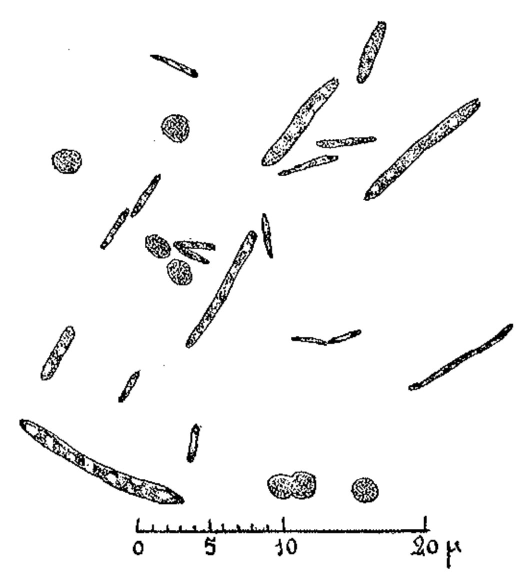



Fig. 199. — Microorganismes symbiotiques de femelle vivipare d'**Aphis rumicis**; frottis de femelle récoltée le 6 mai.

structure visible. Les frottis de Pucerons prélevés dans les premières colonies qui apparaissent en avril ou mai sur les tiges florales de l'oseille sauvage, présentent un aspect sensiblement différent de celui qui vient

d'être décrit : les éléments bacilliformes sont beaucoup plus nombreux

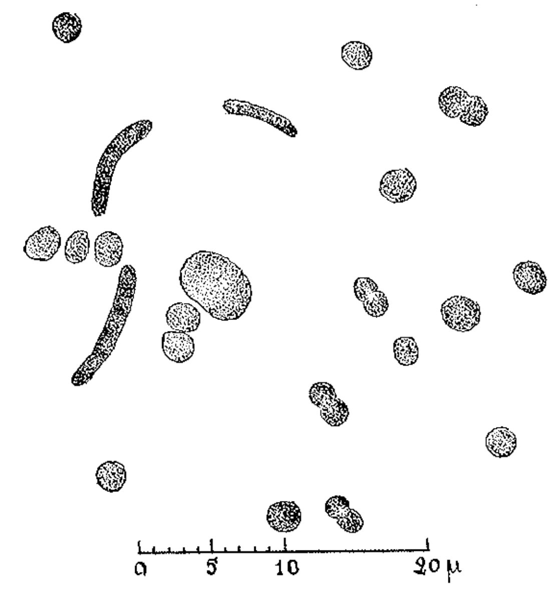



Fig. 200. — Bacilles symbiotiques et symbiotes globuleux d'A. rumicis.

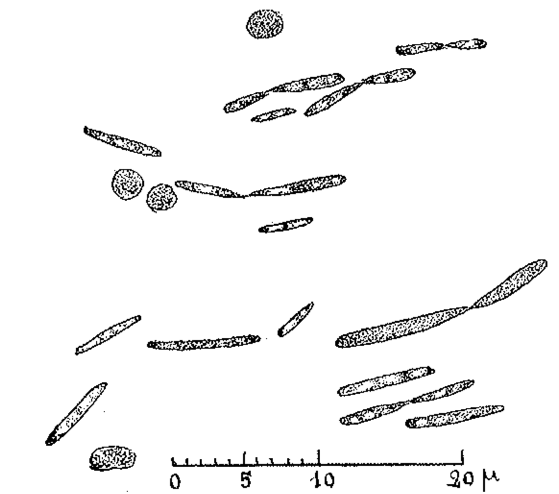



Fig. 201. — Frottis de femelle vivipare d'A. rumicis récoltée le 31 mai 1932 (champ microscopique observé sur frottis coloré au Giemsa).

et de dimensions moindres. Ils sont caractérisés par leur pléomorphisme; à côté d'éléments minuscules mesurant à peine 2 μ de long sur 0,2 μ



de large et présentant la coloration bipolaire, on en observe d'autres qui ne mesurent pas moins de 12 μ de long sur 1 μ d'épaisseur et dont la masse est creusée de vacuoles (Fig. 198) ; ils sont arrondis aux extrémités ou plus ou moins étirés. Ces mêmes Bacilles donnent naissance aux éléments à coloration homogène décrits plus haut et qu'on retrouve en abondance dans les femelles parthénogénétiques des générations suivantes. Si l'on compare la figure 199 avec la figure 200, il semble qu'on ait affaire à deux espèces différentes de Pucerons. Ce n'est cependant pas le cas. Tous les Pucerons prélevés dans les premières colonies d'**A. rumicis** ont été caractérisés par l'intensité de l'infection bactérienne ; l'infection diminue ensuite et dans tous les Pucerons récoltés en été sur les plantes les plus diverses (Cyste lancéolé, Poirier, Capucine, etc.), on ne rencontre que des éléments bacilliformes de grande taille et à colorabilité homogène.

## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DE CHAITOPHORUS ACERIS ET CHAIT. LYROPICTUS, KESS.

Ces deux espèces de Pucerons ont été considérées par divers apidologues comme des formes différentes de l'évolution normale d'une même espèce. On sait depuis longtemps que l'évolution du **Chaitophorus aceris**, comme celle d'un certain nombre d'espèces d'Aphides, est caractérisée par l'existence de générations d'été morphologiquement très différentes les unes des autres ; il faut une grande habitude pour arriver à se reconnaître au milieu de toutes ces formes. Les observations que j'ai faites sur la symbiose chez les Chaitophores tendent à confirmer la thèse de l'unicité des espèces.

Le **Chaitophorus aceris** typique possède deux sortes de microorganismes symbiotiques :

1° Les formes arrondies ordinaires dont les dimensions sont assez variables et qui, sur frottis colorés par le Giemsa, se présentent souvent sous l'aspect de masses à structure plus ou moins granuleuse, teintées en bleu pâle ;

2° Des éléments isolés plus petits, également arrondis ou disposés deux par deux en grains de café ; sur frottis colorés par le Giemsa, ils

se distinguent nettement des gros éléments par leur coloration pourpre surtout intense à la périphérie. Sur coupe, ils se présentent comme des éléments cocciformes à structure homogène. Après fixation par le bichromate-formol ou le formol salé et coloration suivant la méthode de KULL, ils apparaissent colorés en bleu plus foncé que les symbiotes ordinaires.

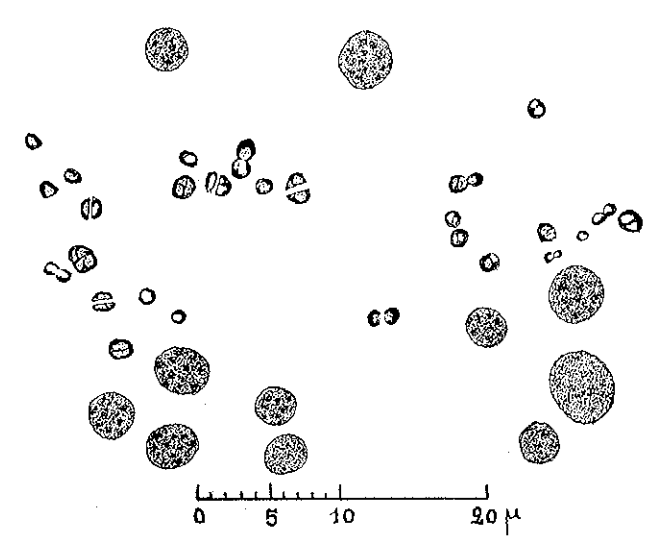



Fig. 202. — Microorganismes symbiotiques de **Chaitophorus aceris**; frottis de femelle vivipare coloré au Giemsa.

Le **Chait. lyropictus** qui se rencontre en été sur **Acer platanoïdes** où il forme des colonies placées le plus souvent à la base des nervures foliaires principales ou sur le pédoncule, est caractérisé par la présence simultanée de symbiotes normaux arrondis, d'éléments arrondis plus petits, intensément colorés sur le pourtour et semblables à ceux de **Chait. aceris,** et enfin d'éléments coccobacillaires de dimensions très irrégulières : à côté d'éléments minuscules mesurant à peine 1 µ de grand axe sur 0,5 µ d'épaisseur, on en observe d'autres dont les dimensions atteignent et parfois même dépassent 5 µ de long sur 1,2 µ d'épaisseur. Ils se colorent mal par le Giemsa et seulement sur le pourtour et aux deux pôles ; la majeure partie du corps bacillaire reste donc incolore. L'aspect des frottis obtenus en dilacérant sur lame de verre le corps entier de Pucerons, rappelle ceux de sang de chenilles en état de



septicémie bactérienne ; il s'agit donc d'une véritable infection microbienne.

Les frottis obtenus avec embryons extraits du corps des femelles parthénogénétiques sont généralement caractérisés par la présence de Bacilles plus volumineux que ceux observés dans le corps de la mère. Parmi les éléments de grande taille, une proportion plus ou moins im-

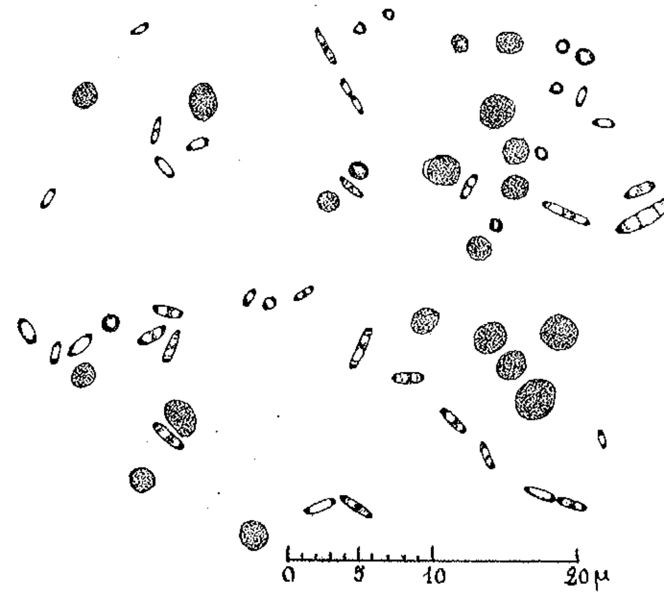



Fig. 203. — Microorganismes d'infection normale et symbiotiques de **Chait. lyropictus**; frottis de femelle vivipare coloré au Giemsa (champ microscopique).

portante ne présentent pas la coloration bipolaire et se teintent uniformément en bleu pâle par le Giemsa ; quelques-uns ont une forme arrondie et se différencient à peine des éléments arrondis qui représentent les symbiotes ordinaires : ils représentent vraisemblablement les formes de passages entre Bacilles ordinaires et symbiotes.

En étudiant sur coupes le mécanisme de la symbiose, nous verrons que la plupart des éléments bacilliformes proviennent du tube digestif dont la lumière est littéralement bourrée de Bacilles ; mais l'infection ne semble pas entraîner de lésions graves ni de désordres fonctionnels.

Chez les femelles ovipares de la génération d'automne, on constate des modifications très curieuses dans la marche des processus infectieux.

Ces modifications sont faciles à mettre en évidence sur frottis obtenus par simple dilacération de corps entiers de Pucerons sur lame de verre

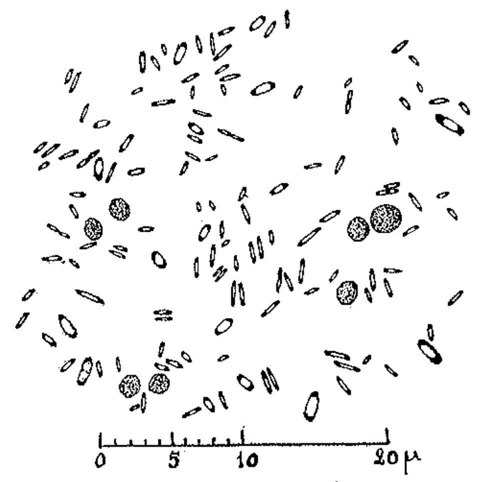



**Fig. 204.** — Microorganismes symbiotiques de femelle ovipare de **Chait. lyropictus**; champ microscopique observé sur frottis coloré au Giemsa.

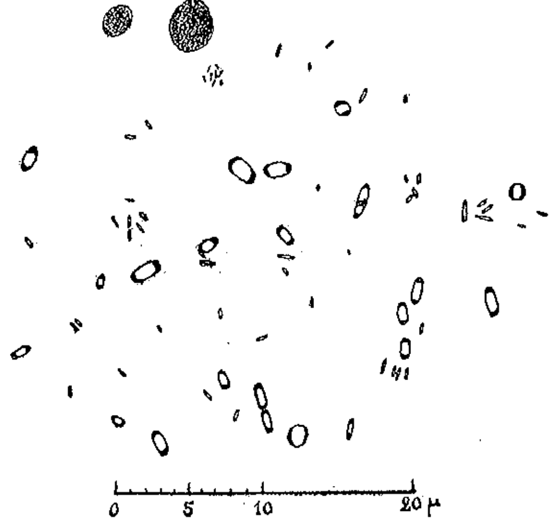



**Fig. 205.** — Microorganismes symbiotiques de femelle ovipare de **Chait. lyropictus**; Bacilles normaux en voie de disparition.

et colorés ensuite par le Giemsa. Sur certains frottis, on observe seulement la présence d'éléments bacilliformes plus ou moins trapus pré-



sentant la coloration bipolaire; ils mesurent en moyenne de 1,5 à 3 μ de long sur 1 à 1,2 μ d'épaisseur et sont identiques aux éléments bacilliformes de grande taille observés chez les embryons des femelles parthénogénétiques. Chez d'autres Pucerons, on observe, à côté de ces Bacilles, des éléments minuscules plus petits encore que ceux observés dans

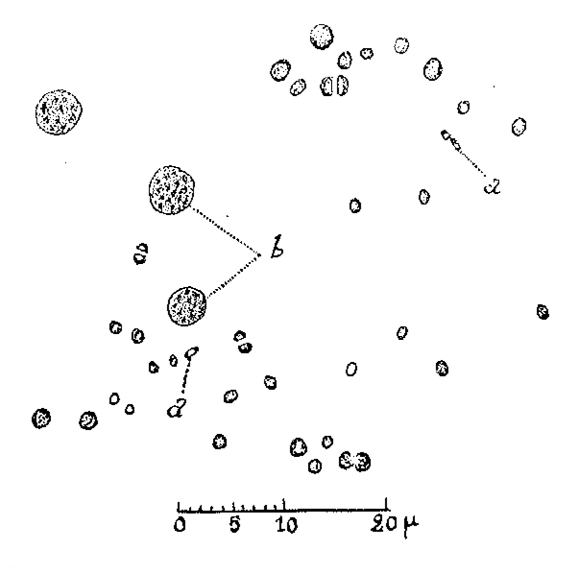



**Fig. 206.** — Microorganismes symbiotiques de femelle ovipare de **Chait. lyropictus.** Rares éléments bacillaires normaux; abondance des formes de passage. (Les deux figures 205 et 206 représentent chacune un champ microscopique sur frottis de femelle ovipare récoltée au début de novembre).

le tube digestif des femelles vivipares ; les plus petits mesurent à peine 1 μ de long sur 0,1 à 0,2 μ d'épaisseur ; ils présentent cependant la coloration bipolaire comme les Bacilles de grande taille ; ils sont disposés parfois en amas plus ou moins volumineux. Entre les deux types de Bacilles existent des formes de passage.

Chez d'autres Pucerons enfin, les éléments bacilliformes sont rares ou même manquent complètement ; parmi les symbiotes de forme arrondie on en observe de volumineux mesurant jusqu'à 5 μ de diamètre et d'autres en forme de cocci mesurant seulement 1 à 2 μ de diamètre ; il existe aussi des formes intermédiaires ; les premiers sont colorables en bleu pâle par le Giemsa et paraissent avoir une structure granuleuse ;

les autres sont colorés en pourpre, principalement à la périphérie, la portion centrale apparaissant le plus souvent non colorée au moins chez les éléments les plus petits. Les symbiotes géants et cocciformes sont identiques à ceux qu'on observe chez **Chait. aceris.** Sur les frottis où l'on rencontre simultanément les Bacilles et les symbiotes arrondis, il est presque impossible de distinguer les plus petits symbiotes cocciformes des Coccobacilles courts à coloration bipolaire ; morphologiquement on peut donc les considérer comme dérivés de ces derniers.

## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DU PUCERON VERT DU POMMIER (APHIS POMI, DE G.)

Le Puceron vert du Pommier est très commun sur Pommier et sur Poirier ; il peut évoluer toute l'année sur ces plantes sans émigrer en été sur des hôtes intermédiaires ; la génération d'automne est sexuée et les femelles déposent leurs œufs à partir d'octobre jusqu'en janvier.

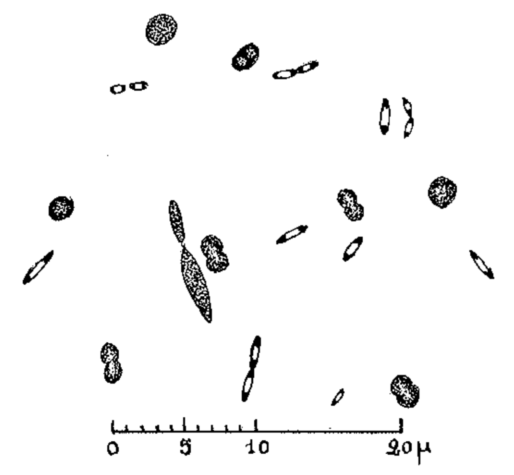



**Fig. 207.** — Microorganismes symbiotiques de femelle ovipare d'**Aphis mali.**

Les symbiotes ordinaires sont représentés par des masses globuleuses de dimensions assez réduites ; les Bactéries symbiotiques, par des éléments coccobacillaires assez allongés à extrémités arrondies ou acuminées. Ces éléments se rencontrent principalement dans le corps adipeux et plus spécialement dans la zone intercellulaire. L'intensité de



l'infection bactérienne normale peut varier dans d'assez grandes limites; il existe même des individus chez lesquels il est impossible de mettre en évidence la présence de Bacilles dans la cavité générale. Les femelles de la génération sexuée d'automne sont en général plus fréquemment et plus fortement infectées que celles des générations d'été.

Les formes géantes peuvent être observées sur frottis mais elles sont relativement peu nombreuses ; elles sont représentées par des éléments plus gros que les Bacilles normaux et par des éléments courts et trapus dont la forme se rapproche de plus en plus de celle des symbiotes globuleux.

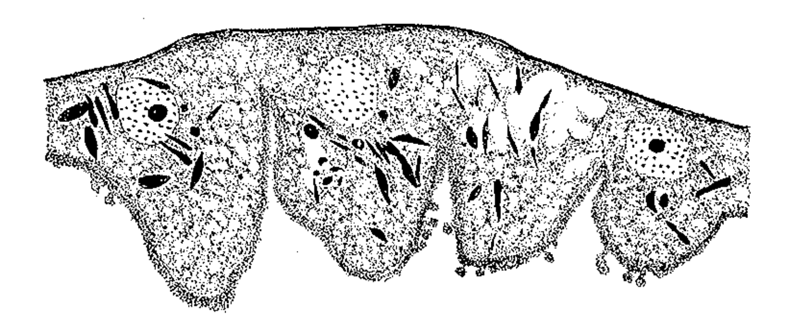


**Fig. 208.** — Coupe longitudinale à travers la partie antérieure du tube intestinal d'une femelle vivipare d'**A. mali**; fixation au Duboscq-Brasil; coloration à l'hématoxyline ferrique.

Des Bacilles identiques à ceux qui infectent les femelles sont rencontrés dans les œufs d'hiver mais ils disparaissent en grande partie en donnant naissance à des formes géantes qui se transforment ensuite en éléments arrondis identiques aux symbiotes globuleux.

Certaines femelles ovipares d'**A. pomi** sont parasitées par une espèce bactérienne qui paraît différente de celle décrite plus haut ; les éléments sont plus courts et plus minces ; l'infection est limitée le plus souvent au tube digestif moyen ; les Bacilles forment, dans la lumière du tube, une couche très dense contre la paroi épithéliale. Dans certains cas, les Bacilles peuvent pénétrer à l'intérieur des ovules arrivés à maturité et même s'y multiplier, provoquant ainsi leur destruction ; l'absence de réaction d'immunité engendre ainsi le parasitisme. Les deux formes bactériennes peuvent être rencontrées simultanément chez un même Puceron. Bien qu'elles soient morphologiquement assez différentes

l'une de l'autre, il ne serait pas impossible qu'elles appartiennent à une seule et même espèce ; nous avons vu, en effet, en étudiant les microorganismes symbiotiques de **Chait. lyropictus** que des différences morphologiques de même nature existaient entre les différents éléments bacillaires rencontrés dans le tube digestif de femelles adultes, dans celui des embryons et dans la cavité générale ; on ne peut douter néanmoins qu'ils appartiennent à une seule espèce.

J'ai signalé l'existence, dans les cellules épithéliales de la poche stomacale, de bâtonnets plus ou moins allongés et de fuseaux semblables à des Levures, colorables par l'hématoxyline ferrique et la fuchsine acide ; j'avais tout d'abord considéré ces bâtonnets comme des éléments bactériens dérivés des Bacilles d'infection normale ; il s'agit là, très vraisemblablement d'inclusions protoplasmiques non organisées; des productions analogues se rencontrent chez d'autres espèces de Pucerons.

## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DU PUCERON VERT DU FRAISIER (APHIS FORBESI, WEED.)

Le Puceron vert du Fraisier, identifié par PUSSARD avec **A. forbesi** serait originaire de l'Amérique. Les caractères de la symbiose offrent

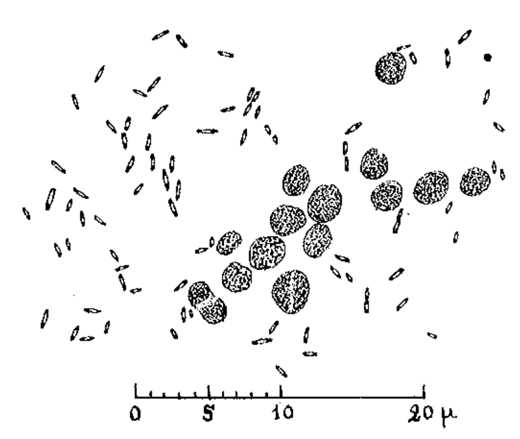



Fig. 209. — Bacilles d'infection normale et symbiotes globuleux d'**Aphis forbesi**; frottis de femelle ovipare coloré au Giemsa.

beaucoup d'analogies avec ceux qui ont été mis en évidence chez le Puceron vert du pommier. Comme dans cette dernière espèce, les formes bactériennes se rencontrent surtout chez les femelles de la génération



sexuée d'automne, mais je les ai observées également chez des femelles parthénogénétiques. En général, les individus en état d'infection bactérienne sont localisés sur certaines plantes, ce qui s'explique, la plupart d'entre eux appartenant à la même famille. Les éléments bactériens sont très nombreux ainsi qu'on peut le constater d'après la figure 209 qui représente un champ microscopique dessiné à la chambre claire ; ce sont des Bacilles assez minces mesurant en moyenne 1 à 1,5 μ de long et se colorant intensément aux deux pôles par le Giemsa. On les observe en plus ou moins grande abondance dans les œufs d'hiver fraîchement pondus mais, peu après la ponte, ils se transforment en formes géantes puis en symbiotes globuleux (fig. 210).

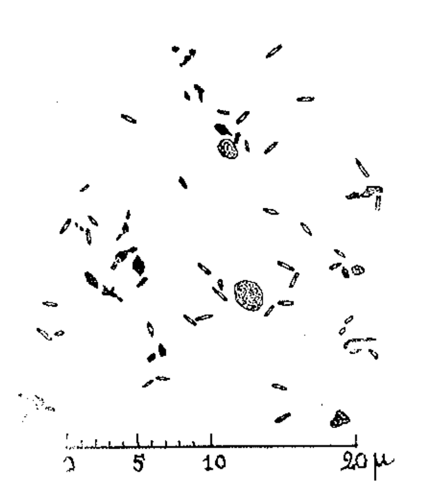



Fig. 210. — Bacilles d'infection normale, formes de passage et symbiotes globuleux dans un frottis d'œuf d'hiver d'**A. forbesi**.

Au moment de l'éclosion des jeunes larves, au printemps, on ne rencontre généralement plus de Bacilles ni de formes de passage ; les microorganismes symbiotiques sont alors représentés presque uniquement par des masses arrondies qui se multiplient par scissiparité comme tous ceux que j'ai observés jusqu'ici.

Certaines femelles ovipares peuvent être en état d'infection bactérienne intestinale comme celles d'**Aphis pomi** ; il s'agit là d'un phénomène parasitaire ; les Bacilles, minuscules, remplissent la lumière intestinale et peuvent infecter les ovules qui se désagrègent rapidement.

Les trois cas de symbiose qui viennent d'être étudiés semblent apporter une preuve à l'appui de l'hypothèse émise par SULC sur l'origine de la symbiose chez les Hémiptères. On peut concevoir en effet que l'infection intestinale observée accidentellement chez les femelles d'**A. pomi** et **forbesi** et normalement chez les femelles vivipares de **Chait. lyropictus**, est une survivance de l'état ancestral. Quoi qu'il en soit, on suit très bien, dans ces différents cas, les processus qui se déroulent entre l'infection bactérienne et la symbiose stricte telle qu'elle existe chez un grand nombre d'espèces d'Aphides.

## LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES DU PUCERON VERT DU CASSIS (RHOPALOSIPHUM RIBIS, L.)

Les différents cas de symbiose étudiés jusqu'ici sont caractérisés par la présence simultanée, dans l'organisme des Pucerons, de Bactéries symbiotiques et de symbiotes globuleux intracellulaires, chaque espèce de Puceron étant caractérisée par une seule et même espèce de Bactérie symbiotique. Dans le cas du **Rh. ribis** au contraire, on constate l'existence, non pas d'une seule espèce bactérienne, mais de trois espèces différentes infectant chacune des hôtes différents.

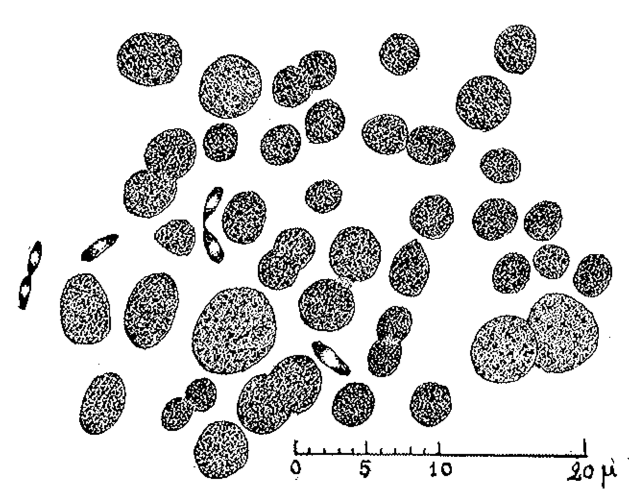



**Fig. 211.** — Bacilles symbiotiques et symbiotes globuleux de **Rhopalosiphum ribis** (1<sup>re</sup> forme) ; champ microscopique observé sur frottis coloré au Giemsa.

L'espèce la plus répandue est celle représentée dans la figure 211. Ce sont de gros Coccobacilles dont l'un des bouts apparaît plus ou moins acuminé suivant que l'élément bacillaire est examiné peu après la division cellulaire ou entre deux divisions consécutives. Le nombre des formes coccobacillaires est relativement très réduit par rapport à celui des symbiotes globuleux ; d'autre part, le rapport entre les deux formes de microorganismes est très constant. Les formes de passage paraissent très rares.

Une deuxième espèce observée plus ou moins fréquemment suivant les lieux d'origine des Pucerons, est représentée par des Bacilles allongés généralement incurvés comme des Vibrions et dont les extrémités sont très acuminées (fig. 212). Les éléments bacillaires présentent la coloration bipolaire comme les Coccobacilles de l'espèce précédente. On n'observe pas de formes de passages semblables à celles qui ont été décrites chez un grand nombre d'espèces précédemment étudiées ; on constate simplement que les dimensions générales de certains Bacilles s'ac-



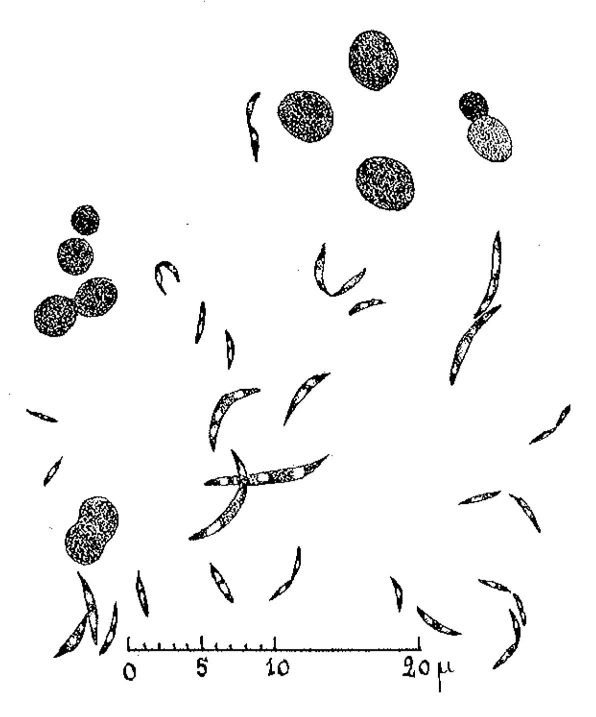



**Fig. 212.** — Bacilles symbiotiques et symbiotes globuleux de **Rh. ribis** (2<sup>e</sup> forme) ; champ microscopique observé sur frottis coloré au Giemsa.

croissent en tous sens déterminant ainsi la formation de Bacilles géants ; ceux-ci s'arrondissent ensuite donnant ainsi naissance aux formes symbiotiques arrondies. Après coloration par le Giemsa, on observe souvent une différenciation de la substance qui les constitue sous forme de granulations chromatophiles.

La troisième espèce de Bactérie symbiotique est représentée par des Coccobacilles beaucoup plus petits et beaucoup plus nombreux que ceux

de la première espèce. Les formes de passage paraissent représentées par des éléments plus gros ayant tendance à s'arrondir.

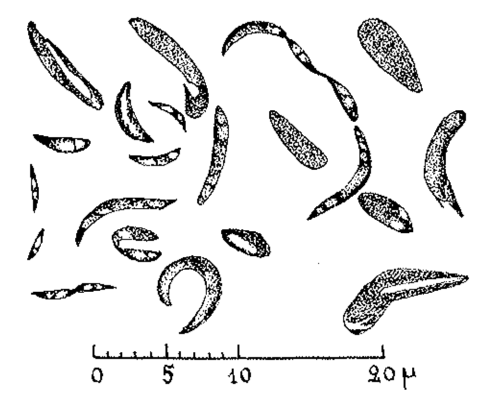



**Fig. 213.** — Bacilles et formes de passage (2e forme) de **Rh. ribis.**

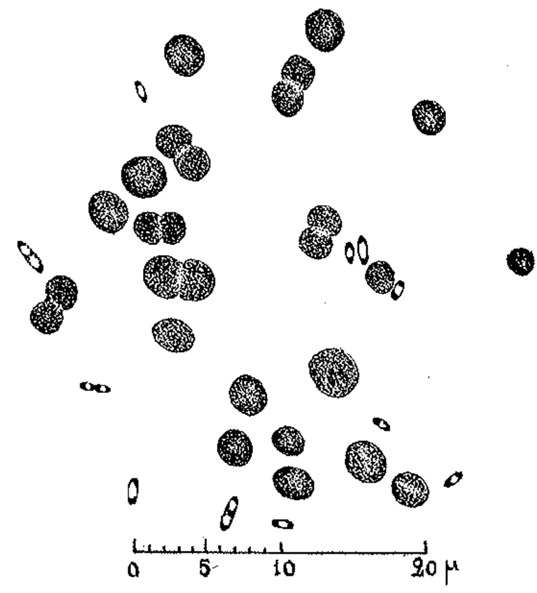



**Fig. 214.** — Bacilles symbiotiques et symbiotes globuleux de **Rh. ribis** (3e forme) : champ microscopique observé sur frottis coloré au Giemsa.

Les trois espèces microbiennes symbiotiques ont pu être observées simultanément chez les Pucerons récoltés dans une même plantation de Cassis ; mais en général, on ne rencontre guère que la première espèce ; la dernière est particulièrement rare.

CHAPITRE XIX

# Etude du mécanisme de la symbiose.

Les symbiotes globuleux se rencontrent généralement à l'intérieur de cellules volumineuses groupées en amas ou isolées les unes des autres, dont la forme et la disposition sont très constantes pour une même espèce d'Aphide. Le pseudo-organe qui groupe les cellules à symbiotes ou mycétocytes, était désigné autrefois sous le nom de masse verte à cause de sa couleur caractéristique, ou de pseudovitellus ; ses caractères anatomiques sont connus depuis longtemps ; leur étude n'offre que peu d'intérêt pour le sujet qui nous occupe. Plus intéressante pour nous est l'étude du mécanisme de la symbiose au cours des différents stades d'évolution des Pucerons. Cette étude a fait l'objet de nombreux travaux mais les auteurs ont tous adopté une thèse essentiellement différente de celle à laquelle j'ai été conduit par mes observations sur simples frottis. Pour eux, les microorganismes de forme arrondie qui se rencontrent à l'intérieur des mycétocytes vivent en symbiose étroite avec l'Insecte, autrement dit, microorganismes et hôte retirent un égal bénéfice de la vie en commun. Les éléments bactériens qu'on rencontre chez quelques espèces seulement, représentent des symbiotes accessoires sans rapport avec les symbiotes globuleux ordinaires.

A la suite des observations que j'ai faites sur frottis et après les résultats inattendus de mes recherches sur l'immunité antibactérienne naturelle et acquise chez les Insectes, je suis arrivé à considérer l'asso-

ciation des microorganismes et des Pucerons non plus comme une symbiose vraie, ce qui d'ailleurs n'a jamais pu être démontré jusqu'ici, mais comme un cas particulier d'immunité antimicrobienne naturelle.

L'étude histologique et cytologique, après emploi de méthodes judicieuses de fixation et coloration, confirme cette opinion en l'appuyant de faits nombreux et de haute valeur démonstrative. La méthode de fixation qui m'a donné les meilleurs résultats pour l'étude que je poursuivais est celle de Helly (Zenker-formol). La pénétration du fixateur n'est pas toujours très bonne en raison de la nécessité où l'on se trouve de fixer l'Insecte **in toto** sans ouverture préalable du corps ; la pénétration est facilitée par piqûre de la paroi au moyen d'une aiguille à pointe très acérée, mais bien souvent cette opération, malgré qu'elle soit faite sous la loupe binoculaire, entraîne des modifications telles que toute étude histologique est rendue impossible. Il faut donc compter sur le hasard bien plus que sur la technique elle-même pour obtenir de bonnes préparations ; l'abondance de matériel et la possibilité de fixer et inclure ensemble un assez grand nombre de pièces, suppléent à l'insuffisance de la technique.

La coloration à l'hématoxyline ferrique a pour inconvénient de colorer un certain nombre d'inclusions cytoplasmiques en dehors des éléments nucléaires et des microorganismes ; elle colore parfois aussi le chondriome, de sorte qu'il n'est pas toujours facile de distinguer les Bactéries symbiotiques ou autres des chondriosomes ; d'autre part, ces Bactéries ne se colorent pas toujours intensément par l'hématoxyline, ce qui fait qu'elles peuvent passer inaperçues. Dans les cas douteux, la coloration par le mélange de Giemsa permettra de savoir si l'on a affaire à une Bactérie ou à un élément normal du cytoplasme de nature chondriosomique ou autre.

Le mélange fixateur de Duboscq-Brasil (Bouin alcoolique) donne parfois de bons résultats, mais il bouleverse trop souvent l'architecture cellulaire et ne permet pas toujours une bonne coloration des éléments bactériens. Les mélanges fixateurs lents comme le bichromate-formol de Regaud ou le formol-salé ne donnent pas de meilleurs résultats que le mélange de Helly.

J'étudierai le mécanisme de la symbiose chez les espèces où l'origine bactérienne des symbiotes globuleux apparaît la plus évidente ; je montrerai que les processus symbiotiques ne se distinguent nullement des processus immunitaires précédemment étudiés.



## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ DREPANOSIPHUM PLATANOIDES

Buchner a étudié spécialement l'infection des œufs d'hiver d'une espèce de **Drepanosiphum** dont il n'a pas donné le nom mais qui paraît différente, pour les raisons qui ont été exposées précédemment, de l'espèce que j'ai étudiée moi-même.

Chez les femelles vivipares, les symbiotes apparaissent très irréguliers sur coupes ; il existe des mycétocytes avec symbiotes de taille

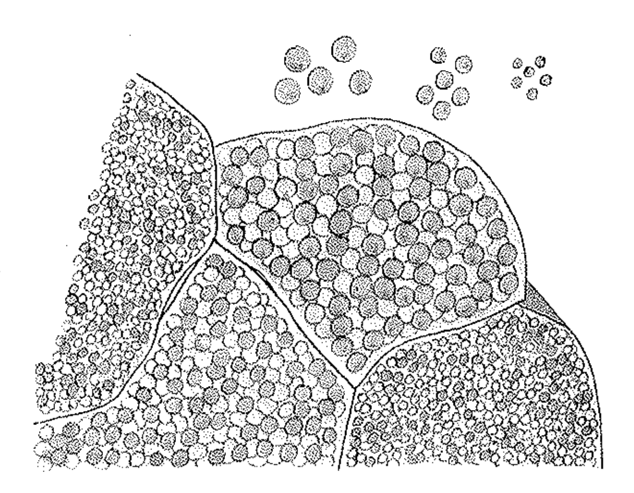


Fig. 215. — Aphis sp. Formes de croissance de symbiotes arrondis (d'après Klevenhusen).

relativement grande et d'autres avec symbiotes de dimensions beaucoup plus réduites. Il ne s'agit pas là de deux espèces différentes de microorganismes mais bien de deux formes différentes d'une même espèce. Klevenhusen, en étudiant le mécanisme de la symbiose chez un Aphis non déterminé, a montré également que les différents mycétocytes peuvent héberger des symbiotes de taille sensiblement différente (Fig. 215) ; les plus grandes sont considérées par lui comme les formes de croissance des plus petites.

Les Bactéries d'infection normale sont relativement peu nombreuses et se rencontrent en liberté dans le sang ou en amas plus ou moins volumineux accolés aux mycétocytes. Chez les femelles ovipares de la

génération sexuée d'automne, les Bacilles sont généralement beaucoup plus nombreux que chez les femelles vivipares; mais des réactions cellulaires et humorales interviennent qui limitent la pullulation de ces microorganismes. C'est ainsi qu'on observe tout d'abord la formation d'amas, volumineux parfois, autour des mycétocytes ; la constitution de ces amas est identique à celle des amas qui se forment autour de cer-

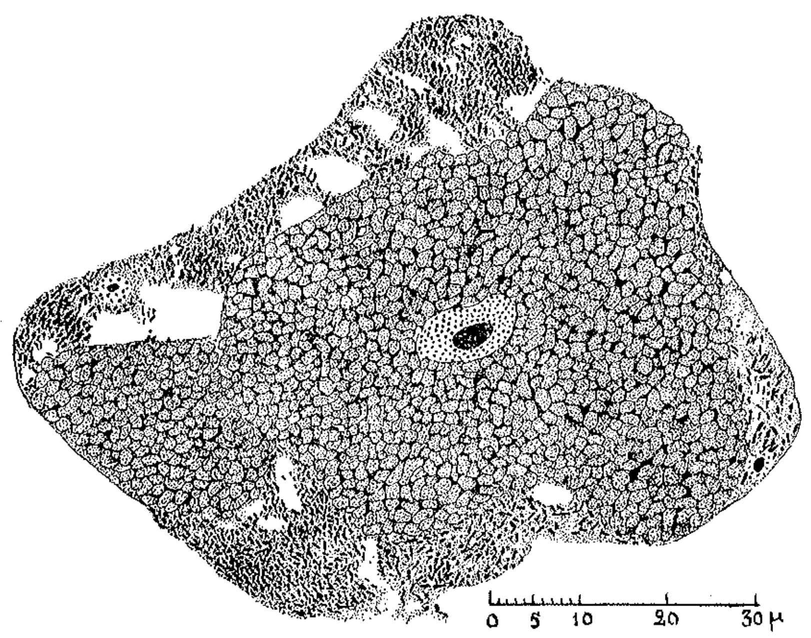



Fig. 216. — Coupe à travers un mycétocyte de femelle ovipare de **Drep. platanoïdes.** Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline ferrique.

taines cellules fixes chez le Ver à soie inoculé avec **Streptococcus bombycis** (comparer les figures 216 et 120). Il y aurait donc, comme chez le Ver à soie, agglutination des Bacilles d'infection normale au contact des mycétocytes. Ce type de réaction peut être assez fréquemment observé chez les Pucerons et j'aurai l'occasion d'en citer plusieurs exemples.

On observe en même temps une phagocytose très active des éléments bacillaires du milieu sanguin, non seulement par les amibocytes mais aussi par des cellules fixes comme celle représentée dans la figure 218 (de telles cellules se rencontrent à l'état isolé dans le corps adipeux mais on ignore leur rôle fonctionnel). Il y a également pénétration de



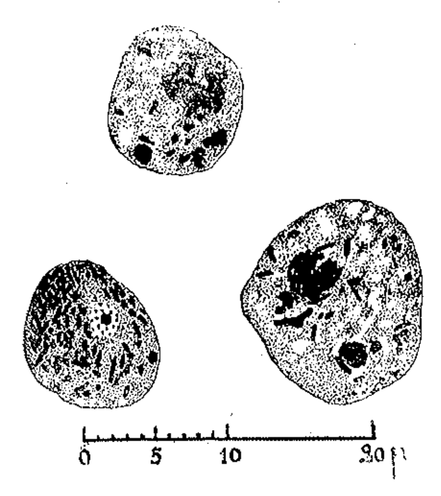



Fig. 217. — Cellules sanguines de femelle ovipare de **Drep. platanoïdes** avec Bacilles symbiotiques phagocytés.

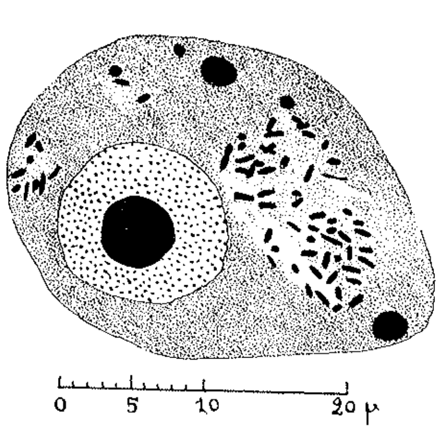



Fig. 218. — Multiplication intracellulaire de Bacilles symbiotiques dans une cellule glandulaire ou excrétrice de **Drep. platanoïdes.**

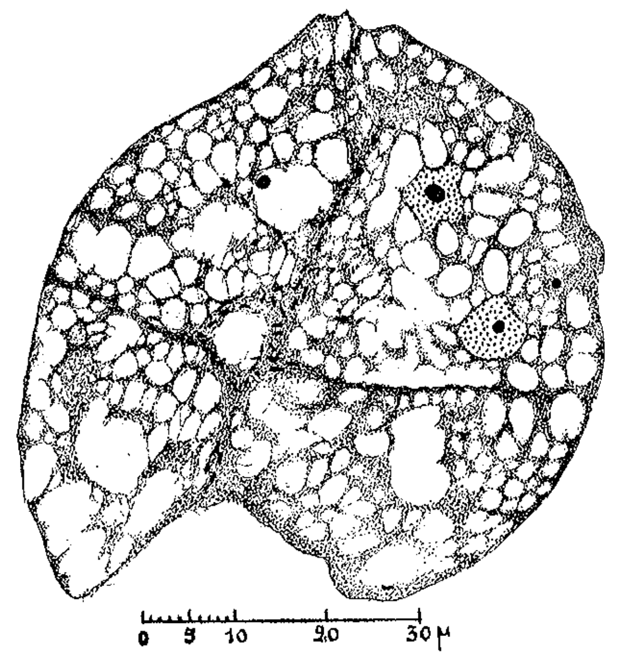



Fig. 219. — Coupe à travers le corps adipeux d'une femelle ovipare de **Drep. platanoïdes**; Bacilles symbiotiques intercellulaires. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline ferrique.

Bacilles dans le corps adipeux et formation d'amas plus ou moins volumineux soit entre les cellules, soit à l'intérieur même des cellules. Les phagocytes bourrés d'éléments microbiens peuvent être retenus par les mycétocytes et incorporés à leur masse ; ceux-ci joueraient ainsi le rôle de macrophages.

Dans toutes les cellules infestées, on rencontre, avec les Bacilles normaux, des formes de croissance qui représentent les formes de pas-

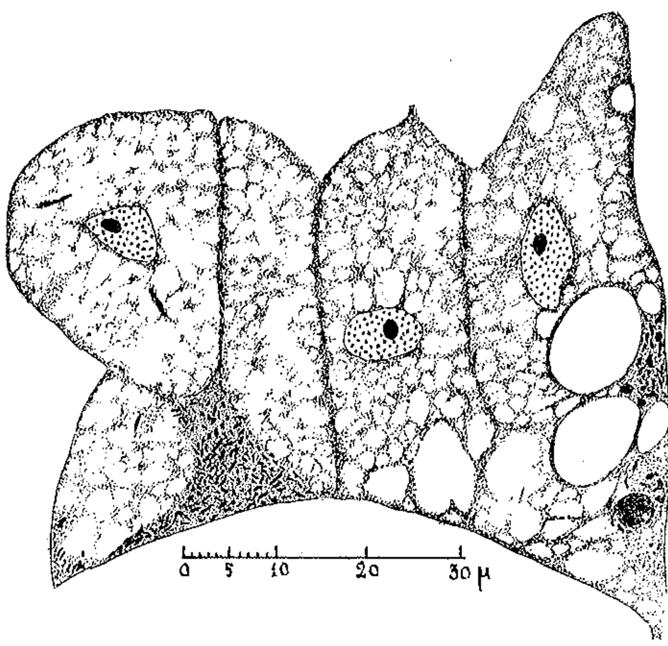



**Fig. 220.** — Coupe à travers le corps adipeux d'une femelle ovipare de **Drep. platanoïdes**; Bacilles inter- et intracellulaires.

sage entre Bacilles ordinaires et symbiotes. Ces formes de passage se rencontrent surtout dans le mycétome ; elles sont particulièrement abondantes dans l'œuf d'hiver fraîchement pondu.

L'abondance des formes bacillaires dans les individus de la génération sexuée d'automne et l'active transformation de ces Bacilles en symbiotes dans les œufs d'hiver semblent des indices d'une régénération saisonnière de ces symbiotes à partir de la forme originelle représentée par les Bacilles.



## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ MACROSIPHUM JACEÆ

D'après KLEVENHUSEN, chez les jeunes embryons de **Macr. jaceæ**, les éléments bacillaires qui représentent pour lui des symbiotes acces-

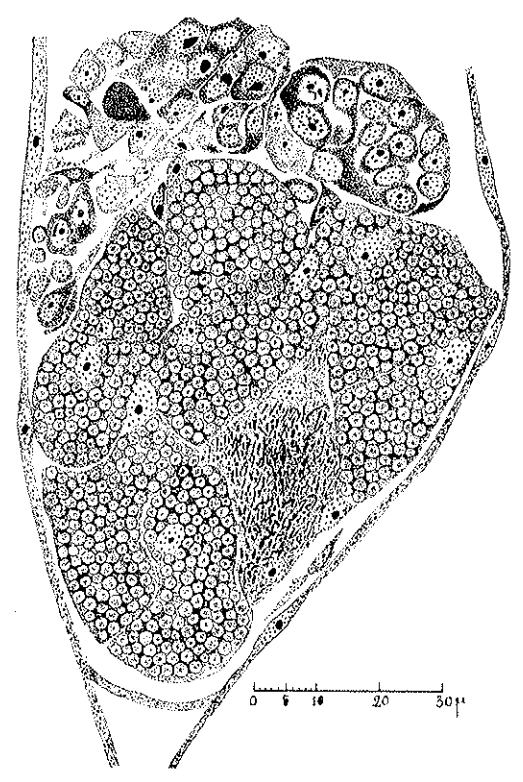



**Fig. 221.** — Coupe longitudinale à travers un embryon de femelle vivipare de **Macr. jaceæ**; on distingue entre les mycétocytes individualisés un syncytium bourré d'éléments bacillaires. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

soires sont réunis dans un véritable syncytium entouré de tous côtés par des mycétocytes. Mycétocytes et syncytium s'accroissent en volume puis le syncytium se divise en deux parties. Mes observations propres aboutissent à des résultats sensiblement différents.

L'existence d'un amas microbien à l'intérieur du mycétome des jeunes embryons est facile à mettre en évidence mais il existe aussi des

Bacilles en dehors du syncytium ; ces éléments se multiplient en différents points du mycétome embryonnaire et donnent bientôt naissance à des formes de croissance dont la morphologie a été étudiée précédemment; les formes de croissance se transforment ensuite en masses globuleuses qui ne diffèrent tout d'abord des symbiotes ordinaires que par leur sidérophilie et leur fuchsinophilie mais qui s'identifient ensuite complètement avec eux. Chez les embryons bien développés, une pro-

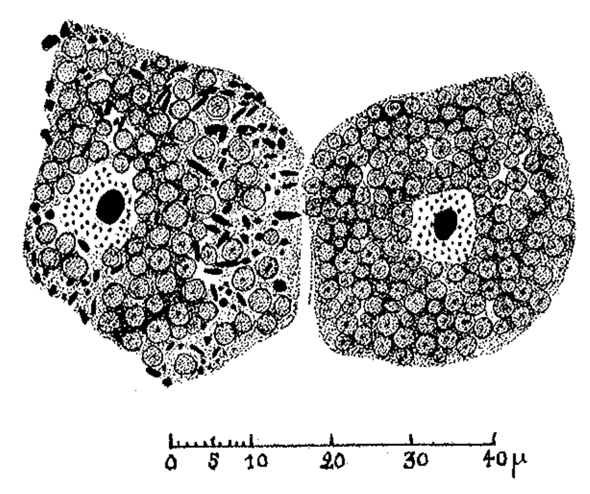



Fig. 222. — Coupe à travers deux mycétocytes d'embryon de **Macr. jaceæ** prêts à éclore; fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

portion assez importante de mycétocytes renferment à la fois les divers éléments bactériens qui résultent de la transformation des Bacilles (Fig. 222).

Chez les adultes, la proportion des Bacilles d'infection normale varie dans de grandes limites d'un individu à l'autre ; de même, la proportion des éléments en voie de transformation sur le pourtour des mycétocytes et à l'intérieur de ceux-ci est très variable. En général, lorsque les éléments bacillaires sont rares, les formes de passage sont abondantes. Il semble donc que la multiplication des Bacilles dans la cavité générale du Puceron de la Centaurée ne soit pas continue et que chaque période de multiplication soit suivie d'une phase de repos, ou plutôt, d'une phase réactionnelle au cours de laquelle l'action humorale et cellulaire se manifeste activement pour rétablir l'équilibre rompu en faveur



des Bacilles. La transformation en formes géantes est surtout intense au contact et à l'intérieur des mycétocytes. On observe également, comme chez **Drep. platanoïdes,** la présence d'amibocytes bourrés d'éléments bacillaires au contact des mycétocytes ; d'autres amibocytes chargés de Bacilles se rencontrent en liberté dans le sang. L'accroissement en volume des mycétocytes ne résulte pas seulement de la multiplication des symbiotes globuleux mais également de la phagocytose des éléments bacillaires du sang et des amibocytes bourrés de microbes.

Il existe donc, chez le **Macr. jaceæ,** un certain nombre de processus réactionnels d'immunité antibactérienne naturelle qui se déroulent dans le milieu sanguin et surtout au voisinage immédiat du mycétome : le phénomène de la symbiose est la résultante de toutes ces réactions. On peut résumer ainsi les différentes phases du processus symbiotique :

1° Phagocytose des Bacilles par les amibocytes après multiplication dans la cavité générale ; cette multiplication représente le stade d'infection normale pendant lequel le Bacille agit comme parasite ;

2° Agglutination des Bacilles libres du sang au contact des mycétocytes et pénétration de ceux-ci dans la couche cytoplasmique ;

3° Fixation des amibocytes libres chargés de Bacilles par les mycétocytes ; les amibocytes s'incorporent ensuite à la masse du mycétome et contribuent ainsi directement à son accroissement en volume ;

4° Transformation des éléments bacillaires en formes géantes arrondies qui s'identifient enfin avec les symbiotes globuleux.

## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ MACROSIPHUM TANACETI

Klevenhusen a étudié minutieusement le mécanisme de la symbiose chez deux espèces voisines de Pucerons, toutes deux parasites de la Tanaisie, **Macrosiphum tanaceti** et **M. tanaceticola** ; dans les deux espèces, les microorganismes symbiotiques sont identiques : les filaments bactériens, qui représentent d'après lui les symbiotes accessoires, sont réunis le plus souvent dans un ou deux syncytia ; chez **M. tanaceti,** le syncytium est vacuolaire et les symbiotes filamenteux sont localisés principalement dans la couche protoplasmique vacuolaire ; chez **M. tanaceticola** au contraire, les filaments symbiotiques sont concentrés dans un petit complexe.

KLEVENHUSEN a constaté, dans cette dernière espèce, une fragmentation du syncytium dans les embryons âgés ; les fragments restent dans les lacunes qui séparent les mycétocytes ou se collent aux mycétocytes. Il a observé en outre la présence de cellules vraisemblablement sanguines avec grosse vacuole rejetant le noyau à la périphérie et renfermant en plus ou moins grande abondance des éléments symbiotiques ; il s'agit là, pour l'auteur allemand, d'une véritable phagocytose de symbiotes. KLEVENHUSEN semble donc admettre que les symbiotes qui ne se trouvent pas dans le champ d'action d'un noyau peuvent se multiplier librement.

Chez **M. tanaceti,** les noyaux du syncytium sont rejetés à la périphérie et autour d'eux se concentrent les symbiotes filamenteux ; ainsi naîtraient des complexes cellulaires qui se dissocieraient et parviendraient : soit entre les mycétocytes, soit dans la cavité générale.

En somme, les faits observés par KLEVENHUSEN semblent bien rentrer dans la catégorie des phénomènes d'immunité antibactérienne; mais cet auteur ne les interprète pas ainsi.

Mes recherches propres ont porté sur une seule espèce, la seule d'ailleurs que j'aie rencontrée jusqu'ici sur Tanaisie et qui peut être identifiée avec **M. tanaceti.** J'ai effectivement constaté la présence d'un amas bactérien assez volumineux dans la région abdominale postérieure ou dans la région antérieure, mais s'agit-il vraiment d'un syncytium comme le prétend KLEVENHUSEN ? Il semble plutôt qu'on ait affaire à un amas cellulaire formé d'amibocytes et peut-être de mycétocytes agglutinés ensemble ; on rencontre en effet des noyaux qui peuvent être assimilés à ceux des deux sortes d'éléments cellulaires. KLEVENHUSEN a d'ailleurs figuré des éléments sanguins à l'intérieur du syncytium.

Chez les femelles jeunes avec embryons au début de leur développement, l'infection microbienne paraît limitée au voisinage immédiat de l'amas bactérien ; plus tard, l'infection se développe et les Bacilles libres peuvent être observés dans les diverses parties de la cavité générale mais plus spécialement dans la région abdominale, dans la partie occupée par le mycétome. C'est d'ailleurs là une constatation d'ordre très général et qui peut être faite chez un grand nombre d'espèces de Pucerons ; il semble que le mycétome exerce, sur les éléments microbiens du sang, une action chimiotactique énergique qui a pour effet de localiser l'infection dans son voisinage. Le développement de l'infection a pour conséquence une intensification des réactions d'immunité ; on constate alors la pré-






Fig. 223. — Coupe à travers le syncytium et un mycétocyte de **Macr. tanaceti.** Développement de l'infection bactérienne normale, agglutination au contact du mycétocyte et phagocytose des Bacilles. Fixation au Helly ; coloration à l'hématoxyline.

sence d'amas plus ou moins volumineux au contact des mycétocytes ; certains sont énormes et on distingue à l'intérieur un ou plusieurs noyaux dont les dimensions correspondent à celles des noyaux d'amibocytes : ils représentent ainsi de véritables syncytia et ont été figurés et effectivement considérés comme tels par KLEVENHUSEN ; mais leur origine est tout autre que l'admet l'auteur allemand ; il s'agit là, à mon avis, de processus d'immunité antibactérienne humorale et cellulaire analogues à ceux

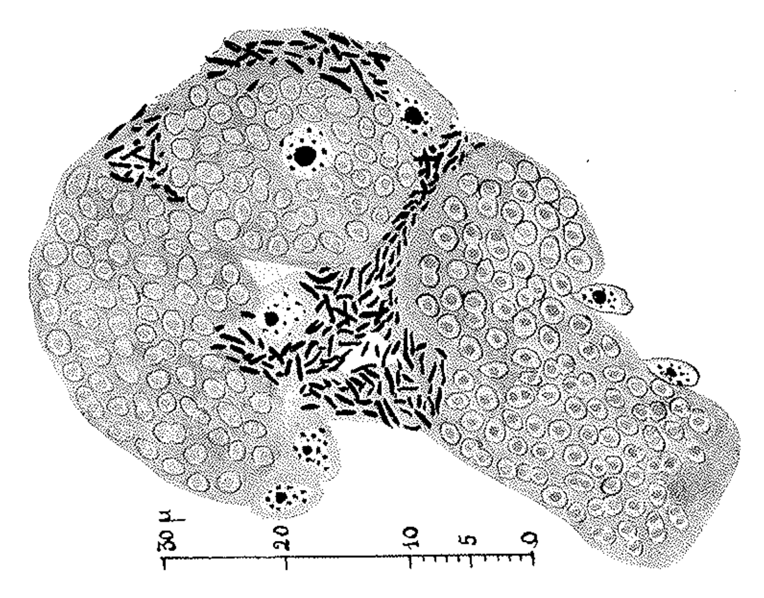



Fig. 224. — Coupe à travers le mycétome d'un embryon de **M. tanaceti**. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

que j'ai observés chez beaucoup d'autres espèces de Pucerons. Les Bacilles agglutinés au contact des mycétocytes ou incorporés à leur masse se transforment en masses géantes (formes de passage) puis en symbiotes globuleux comme il a été expliqué dans le précédent chapitre.

En résumé, on peut concevoir ainsi le mécanisme de la symbiose chez **M. tanaceti** : les éléments bactériens, tout d'abord étroitement localisés chez les embryons et les jeunes larves se multiplient ensuite activement dans la cavité générale, mais des réactions d'immunité interviennent qui limitent l'infection et immobilisent les Bacilles au voisinage immédiat des mycétocytes ; ultérieurement, les Bacilles donnent



en partie naissance aux symbiotes globuleux et contribuent à l'accroissement en volume du mycétome.

Chez les femelles ovipares de la génération sexuée d'automne, il y a également multiplication des Bacilles, phagocytose active et agglutination au contact des mycétocytes.

Le mécanisme de la symbiose présente donc de grandes analogies avec celui que nous avons étudié chez **M. jaceæ**.

KLEVENHUSEN attire l'attention sur l'existence, chez **M. tanaceticola**, de formes d'infection courtes qui diffèrent sensiblement de la forme filamenteuse habituellement observée à l'intérieur du syncytium. C'est là un phénomène assez commun dont la cause doit être cherchée dans les modifications du milieu sanguin bien plus que dans un changement de propriétés morphologiques des Bacilles. Lorsqu'un milieu liquide devient favorable au développement d'espèces microbiennes plus ou moins filamenteuses (Champignons ou Bactéries), on observe le plus souvent une fragmentation excessive des éléments qui restent courts. Ainsi, en étudiant les Champignons entomophytes, nous avons vu que les filaments mycéliens se fragmentaient anormalement dans le milieu sanguin des Insectes. Au contraire, dans les milieux peu favorables au développement des Bacilles, ceux-ci ont tendance à s'allonger ou à grossir sans se fragmenter. L'allongement démesuré des éléments du Bacille symbiotique de **M. tanaceti** à l'intérieur du syncytium serait donc une manifestation d'ordre immunitaire au même titre que la production des formes géantes arrondies.

## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ TETRANEURA ULMI

D'après KLEVENHUSEN, les symbiotes bactériens seraient représentés par des éléments minces et de longueur variable mesurant de 4 à 12 µ. D'après mes observations propres, ce sont au contraire des éléments très larges ; mais sur coupes, il est assez difficile de les mettre en évidence du fait de leur manque de colorabilité. On les rencontre seulement dans un énorme syncytium entouré de mycétocytes et situé dans la partie antérieure de l'abdomen. Contrairement à ce qu'on observe chez d'autres espèces de Pucerons, en particulier chez **M. tanaceti**, les Bacilles ne semblent pas se multiplier dans le sang à certains

stades de développement de l'Insecte et à aucun moment on ne constate la présence d'amas bactériens à la surface des mycétocytes.

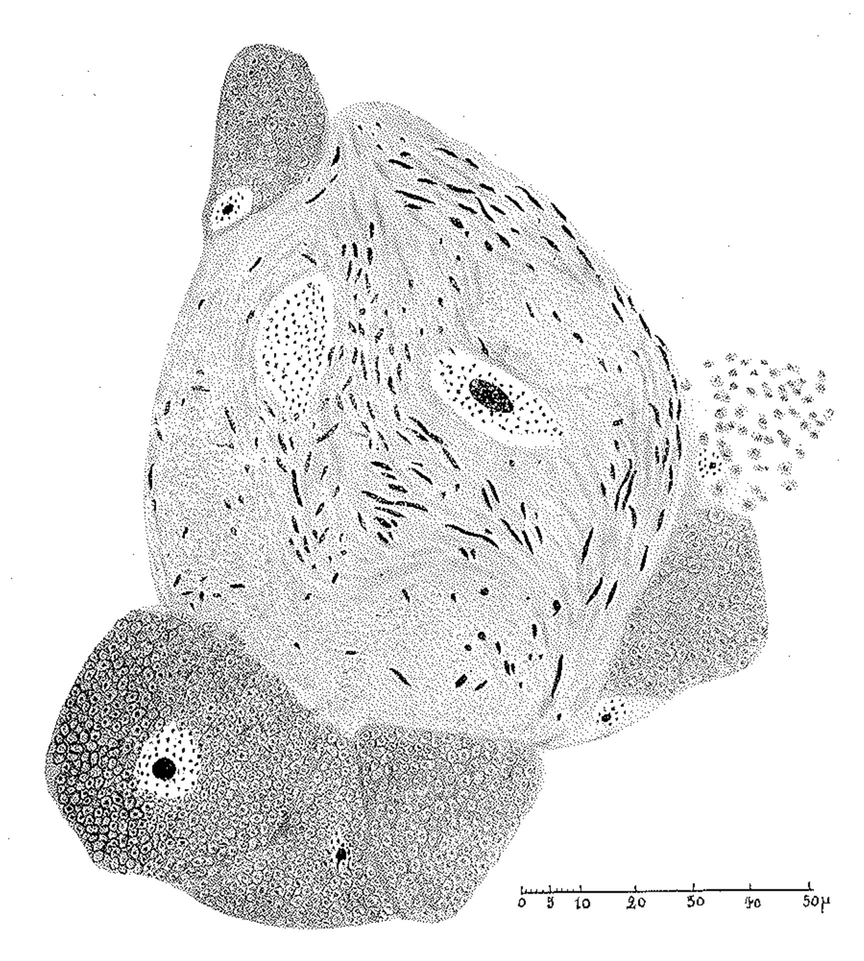



Fig. 225. — Coupe à travers le syncytium de **Tetraneura ulmi.** Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

Au moment de l'infection des embryons, au début de leur développement, il y a désagrégation de certains mycétocytes et d'une partie du syncytium mais non multiplication active dans le sang.



## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ PTEROCALLIS JUGLANDICOLA

Nous avons vu précédemment que les Bactéries symbiotiques sont représentées par de gros éléments plus ou moins allongés qui, à certains moments, se transforment activement en symbiotes globuleux. Cette transformation a lieu principalement au contact des mycétocytes où les Bacilles forment des amas plus ou moins volumineux.

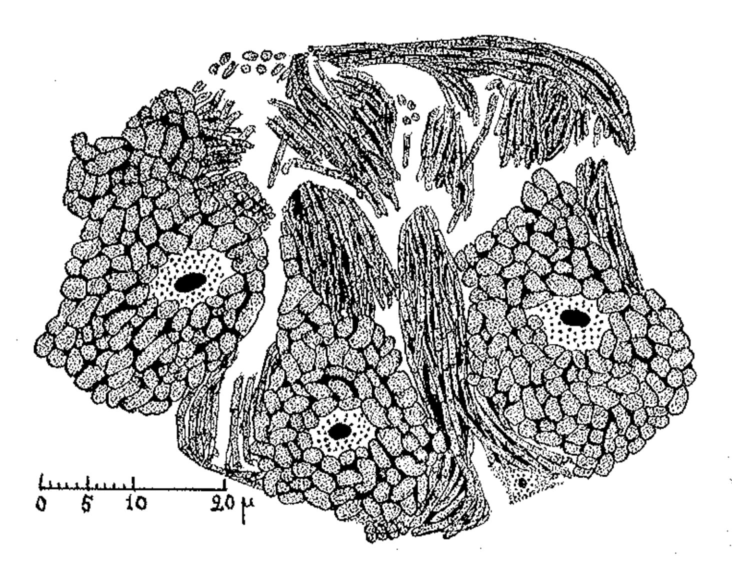



Fig. 226. — Coupe à travers le mycétome d'un embryon de **Pterocallis juglandicola.** Fixation au Regaud; coloration à l'hématoxyline.

Klevenhusen, étudiant la structure du mycétome, a montré que les filaments bactériens étaient localisés dans des cellules de grosseur variable, intercalées entre les mycétocytes ; les plus grandes atteignent les dimensions des mycétocytes ordinaires ; les noyaux de ces cellules sont souvent allongés dans le sens des filaments intracellulaires. J'ai constaté également que le noyau des mycétocytes ordinaires présentait assez souvent cette disposition.

La conception de l'auteur allemand apparaît inexacte et s'accorde mal avec les observations que j'ai pu faire. Constatons tout d'abord que les Bacilles ne sont pas toujours enfermés dans des cellules, mais peuvent former des amas plus ou moins volumineux à la surface des mycétocytes ; au contact de ces éléments, les Bacilles donnent naissance aux formes de passage précédemment décrites puis aux symbiotes globuleux ordinaires. A mon avis, les cellules bourrées d'éléments microbiens

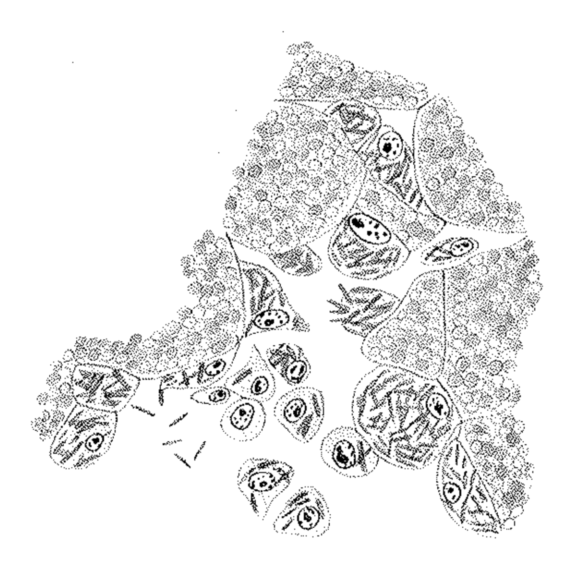


**Fig. 227. — Pter. juglandicola.** Partie du mycétome d'une jeune femelle ovipare; gross.: 750 (d'après Klevenhusen).

sont généralement des cellules sanguines phagocytantes. Comme je l'ai constaté chez d'autres espèces, la multiplication bacillaire paraît intermittente. Elle ne semble pas se manifester en dehors du voisinage immédiat du mycétome. Cette localisation de l'infection représente certainement l'un des caractères les plus curieux des processus infectieux normaux chez les Aphides. Au moment de l'infection des embryons, chez les femelles vivipares, ou des œufs, chez les femelles ovipares, il se produit une sorte de dissociation de certains mycétocytes comme si le mycétome embryonnaire exerçait une action chimiotactique sur les



microorganismes symbiotiques supérieure à celle exercée par les mycétocytes et éléments phagocytants.

Chez les femelles ovipares adultes, d'après KLEVENHUSEN, les Bacilles ne se présenteraient pas sous la forme de longs filaments mais seraient constitués par des bâtonnets mesurant 6 μ de long en moyenne. D'après les observations que j'ai faites moi-même, la présence de filaments courts n'est pas spéciale aux femelles ovipares mais peut être observée également chez les femelles vivipares. Des éléments courts et tout d'abord plus minces que les éléments bacillaires ordinaires auraient été observés par l'auteur allemand dans des cellules de dimensions variables qui viennent au contact des mycétocytes ; par grossissement et multiplication des bâtonnets, les dimensions des cellules s'accroîtraient sensiblement ; finalement, elles prendraient place dans le mycétome. D'après la figure de KLEVENHUSEN que j'ai reproduite sous le n° 227, l'aspect général correspondrait à celui que j'ai observé chez d'autres espèces de Pucerons ; en réalité, il s'agit d'une réaction d'immunité cellulaire typique à deux degrés :

1° Phagocytose des éléments microbiens libres dans le sang ;

2° Agglutination des phagocytes au contact des mycétocytes.

## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ APHIS RUMICIS

Les mycétocytes à symbiotes globuleux sont isolés les uns des autres chez l'adulte mais assemblés en un mycétome bien défini chez l'embryon. Les Bacilles symbiotiques, comme ceux de **Tetraneura ulmi,** sont localisés dans un syncytium situé dans la région abdominale antérieure et isolé des mycétocytes. La multiplication des Bacilles dans le sang, si elle existe, n'est nullement comparable à celle qu'on observe chez **Drep. platanoïdes, Macr. jaceæ** et **M. tanaceti.** Des éléments peuvent être phagocytés par les amibocytes ou les mycétocytes, mais il ne se forme jamais d'amas bactériens volumineux au contact de ces derniers. Au moment de l'infection du germe embryonnaire, il y a simplement dissociation de certains mycétocytes et d'une partie du syncytium à Bacilles et mise en liberté dans le sang de symbiotes globuleux et de Bacilles. Nous avons vu que des éléments bactériens plus nombreux

avaient été observés chez les femelles parthénogénétiques récoltées parmi les premières colonies de Pucerons apparues sur Rumex ; même dans

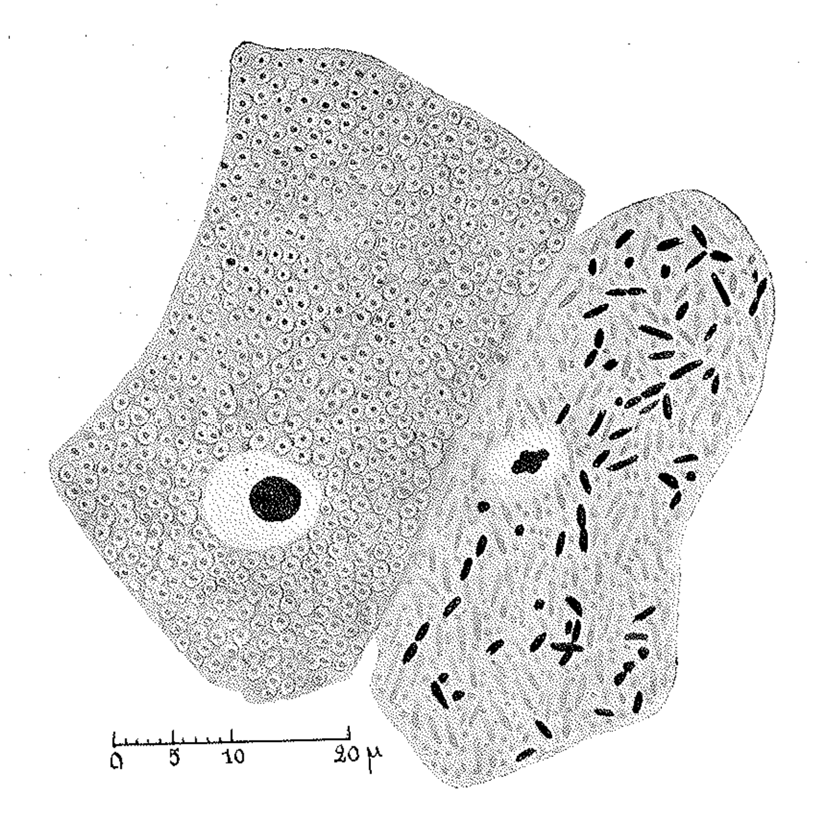



Fig. 228. — A. rumicis; coupe à travers deux mycétocytes d'embryon bien développés. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

ces Pucerons, il n'a pas été possible de mettre en évidence la présence d'amas bactériens à la surface des mycétocytes.

## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ LE PUCERON LANIGÈRE

Les Bacilles symbiotiques se rencontrent en grand nombre dans la cavité générale et principalement dans la région antérieure du corps, comme l'a constaté KLEVENHUSEN ; mais ils ne forment pas, comme



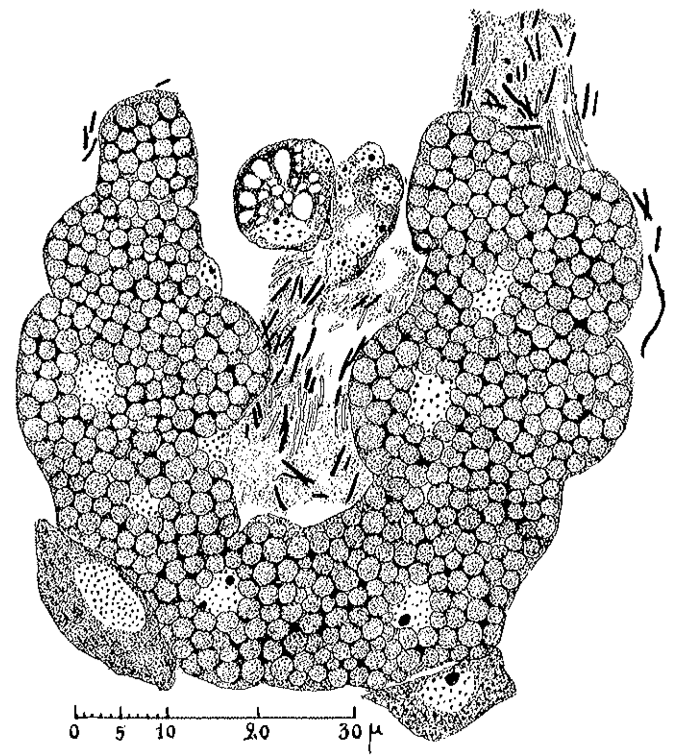



Fig. 229. — Coupe longitudinale à travers un embryon de Puceron lanigère bien développé. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

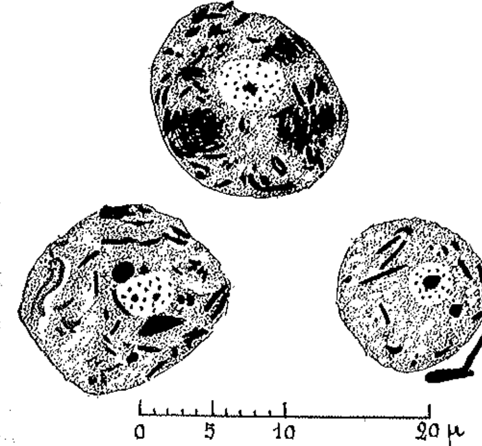



Fig. 230. — Amibocytes de Puceron lanigère avec Bacilles symbiotiques phagocytes. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

beaucoup d'autres Bacilles symbiotiques, des amas plus ou moins volumineux à la surface des mycétocytes. Ils apparaissent, sur coupes, enrobés dans une masse hyaline non colorable (KLEVENHUSEN) qui paraît constituée par le plasma lui-même. La figure 229 qui représente une coupe longitudinale d'embryon bien développé, donne une idée assez exacte des caractères de l'infection bactérienne.

Les formes de croissance, déjà observées par Peklo, sont relativement rares et difficiles à reconnaître sur coupes. Les éléments du sang phagocytent assez activement les éléments bacilliformes ainsi qu'on peut le constater d'après la figure 230. Klevenhusen avait déjà fait de semblables constatations ; il avait constaté en outre que les Bacilles étaient localisés dans un syncytium chez les jeunes embryons ; ce syncytium n'a qu'une existence éphémère et se fragmente avant la naissance de la larve.

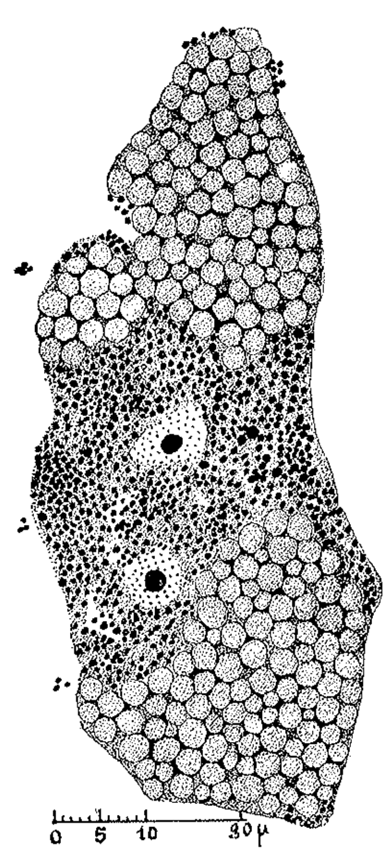


Fig. 231. — Coupe à travers le mycétome d'une jeune femelle vivipare de **Siphonophora rosae**. Fixation au Helly ; coloration à l'hématoxyline.

## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ SIPHONOPHORA ROSÆ,

Comme nous l'avons vu précédemment, les éléments cocciformes, qui représentent la forme originelle des symbiotes globuleux ordinaires, se rencontrent tout d'abord dans des mycétocytes semblables à ceux qui renferment ces symbiotes (fig. 231) ; on les rencontre également en petits amas ou isolés à la surface ou à l'intérieur des mycétocytes à symbiotes globuleux ; ils grossissent et s'identifient progressivement avec ces microorganismes ; ils contribuent donc directement à l'accroissement en volume du mycétome. Sur coupes colorées par l'hématoxyline, on distingue facilement les Micrococques des symbiotes globuleux grâce à leur sidérophilie prononcée. Comme chez la plupart des autres espèces d'Aphides, ils sont phagocytés par les éléments du sang.



## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ APHIS POMI ET A. FORBESI

Nous avons vu que l'infection bactérienne, dans la première espèce, était surtout développée chez les femelles ovipares ; mais on observe, d'une année à l'autre, des variations assez grandes dans la proportion des femelles parasitées. En 1928 par exemple, presque toutes étaient en état

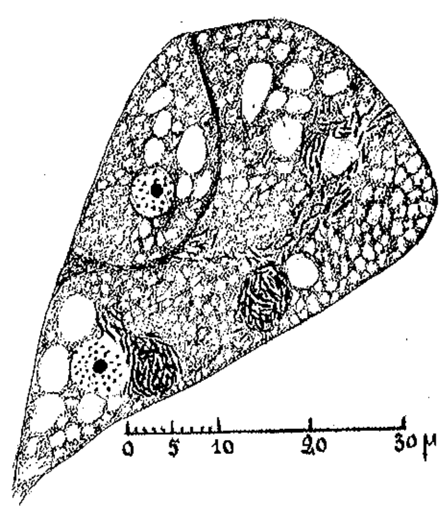


Fig. 232. — Coupe à travers des cellules adipeuses de femelle ovipare d'A. **pomi** ; Bacilles symbiotiques intra- et intercellulaires. Fixation au Duboscq-Brasil ; coloration à l'hématoxyline.

d'infection intestinale ; en 1932, au contraire, les femelles non infectées étaient beaucoup plus nombreuses que les autres. Les Bacilles se multiplient surtout dans la lumière du tube digestif postérieur ; la partie antérieure ne renferme généralement pas de Bacilles. Ceux-ci peuvent passer dans le sang mais ils ne semblent pas s'y multiplier ; de même, on ne rencontre pas d'amas bactériens au contact des mycétocytes ; exceptionnellement, les Bacilles peuvent infester les cellules adipeuses. Nous avons vu que les Bacilles intestinaux passaient dans l'ovule mais se transformaient plus ou moins vite en formes de croissance.

Chez le Puceron vert du pommier, comme chez celui du fraisier, les réactions d'immunité sont peu marquées, sauf dans l'œuf où les Bacilles se transforment assez rapidement en masses géantes arrondies.

## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ APHIS SP. DU PLANTAIN

Les Bacilles d'infection normale sont faciles à mettre en évidence sur coupes grâce à leur affinité assez grande pour l'hématoxyline. Chez les embryons bien développés, ils sont localisés dans un syncytium assez

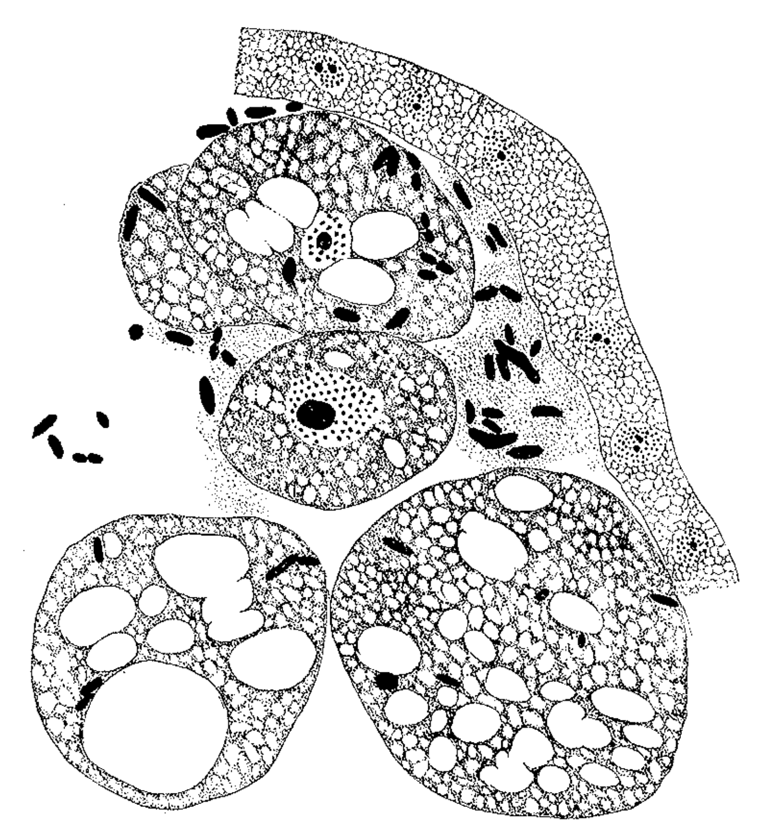


Fig. 233. — Coupe à travers l'hypoderme et le corps adipeux d'un Puceron noir du Plantain. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

volumineux qui présente beaucoup d'analogies avec celui d'**Aphis rumicis.** Chez les femelles vivipares adultes, ils se rencontrent en plus ou moins grand nombre dans la cavité générale et dans le corps adipeux dont les cellules apparaissent souvent isolées les unes des autres ; ils



pénètrent même à l'intérieur des cellules mais sans entraîner de lésion grave (Fig. 233). On ne constate pas la présence d'amas bactériens à la surface des mycétocytes, ni l'existence d'un syncytium comme chez l'embryon. Les formes intermédiaires entre Bacilles et symbiotes globuleux ne sont pas rares sur frottis (Fig. 182), mais on ne peut se rendre compte, sur coupe, des points du corps où elles se rencontrent plus spécialement. Les réactions d'immunité sont certainement beaucoup moins actives que chez d'autres espèces de Pucerons.

## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ A. PYRARIA, PASS.

Les processus symbiotiques présentent de grandes analogies avec ceux qui se déroulent dans l'organisme d'**A. mali, A. rumicis** et le Puceron noir du Plantain. Les Bacilles allongés et plus ou moins fusiformes se rencontrent principalement dans les espaces intercellulaires du

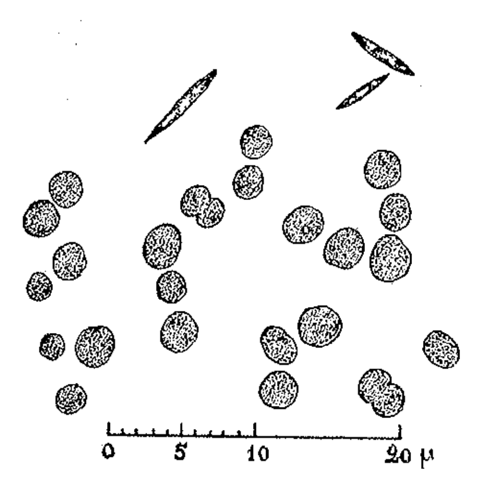



Fig. 234. — Bacilles symbiotiques et symbiotes globuleux d'A. pyraria.

corps adipeux. Le nombre des éléments bactériens infectant normalement l'organisme varie d'un individu à l'autre. Cependant, on ne constate pas que les réactions d'immunité sont aussi caractérisées que dans d'autres espèces. On peut observer des Bacilles isolés ou en petits amas à la surface des mycétocytes. Dans quelques individus, le tractus intes-

tinal est en état d'infection bactérienne comme chez **A. mali** et **Chait lyropictus** ; mais l'infection n'est pas obligatoirement transmissible au tube digestif de l'embryon comme dans cette dernière espèce. La lumière du tube est littéralement bourrée d'éléments bactériens minuscules, sans que des lésions particulièrement graves soient occasionnées aux cellules de la

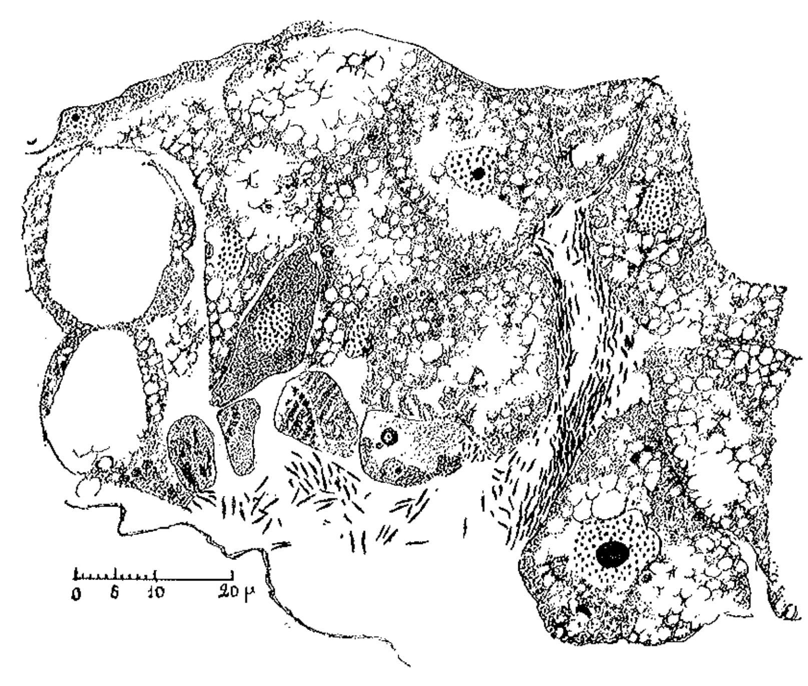



Fig. 235. — Coupe tangentielle à travers la région antérieure du corps d'une femelle vivipare d'A. **pyraria**. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

paroi épithéliale. Lorsque l'infection intestinale est peu avancée, les éléments bacillaires sont de dimensions plus grandes et se rapprochent des éléments de la cavité générale. L'origine de l'infection doit être cherchée très vraisemblablement dans ces éléments bacillaires intestinaux. Chez les femelles infectées, en effet, on constate que les Bacilles de la cavité générale sont relativement très nombreux et peuvent former des amas autour des mycétocytes. Dans les embryons, on constate la présence d'amas plus ou moins volumineux entre les mycétocytes et à l'intérieur de certains d'entre eux. La figure 237 représente une coupe longitudinale



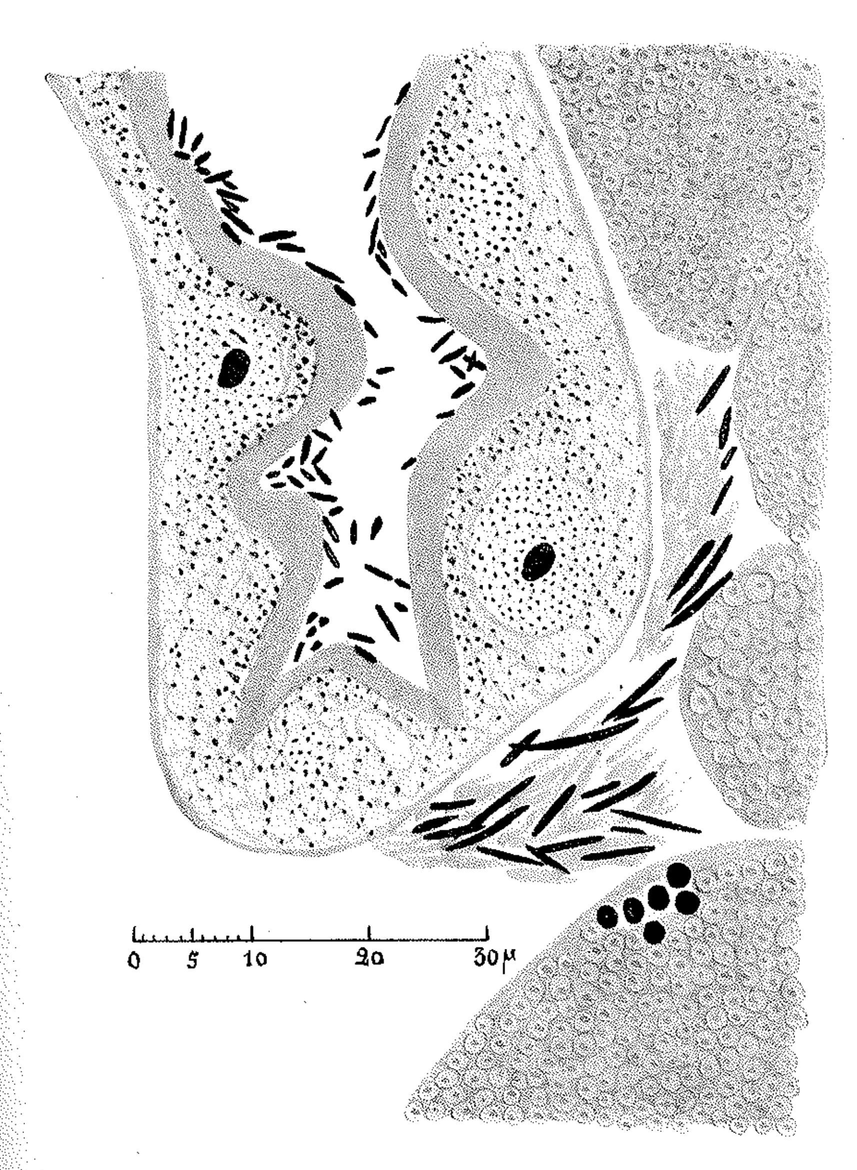



Fig. 236. — Coupe à travers un embryon de femelle vivipare d'A. **pyraria** en état d'infection intestinale. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

à travers un très jeune embryon de femelle en état d'infection bactérienne. Les Bacilles, de très grande taille et fortement colorés en noir par l'hématoxyline, sont sensiblement plus nombreux que chez les

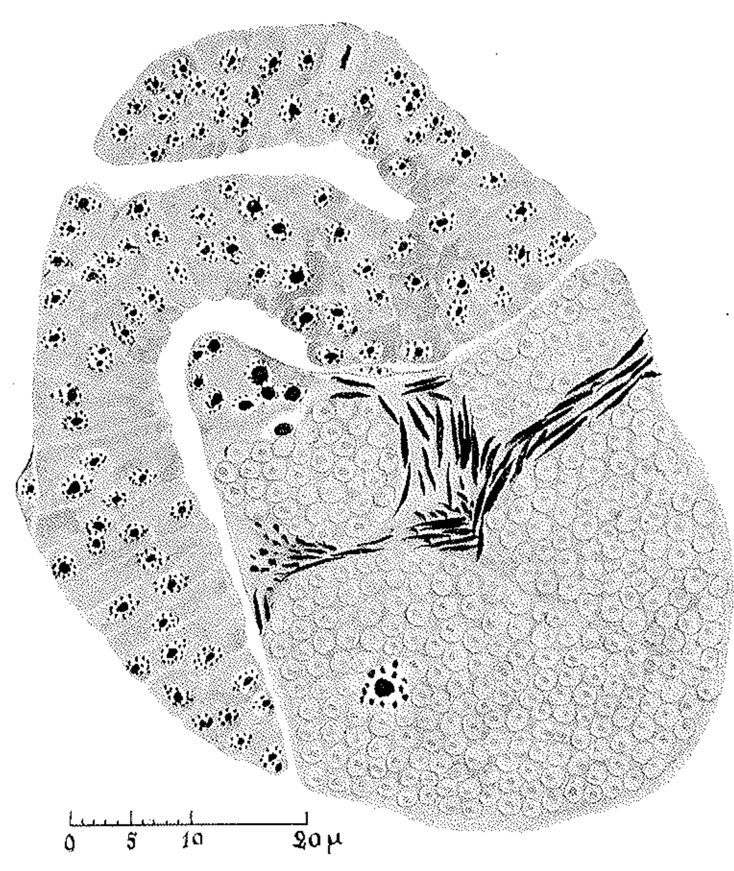



Fig. 237. — Coupe à travers un jeune embryon d'A. **pyraria** dans une femelle vivipare en état d'infection intestinale. Fixation au Helly, coloration à l'hématoxyline.

embryons des femelles non parasitées. Dans les embryons plus âgés, on peut observer d'énormes amas et des mycétocytes remplis de Bacilles.

La symbiose bactérienne chez **A. pyraria** peut donc évoluer en parasitisme vrai ; cependant la pullulation dans la cavité générale est toujours limitée et n'entraîne pas de désordres graves. La phagocytose est la principale réaction d'immunité observée ; elle s'exerce par l'inter-



médiaire des cellules sanguines et des cellules du mycétome. Chez les Pucerons fortement infectés, on peut observer dans certains mycéto-

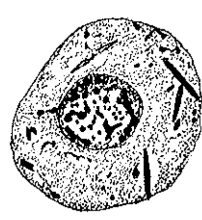



Fig. 238. — Amibocytes d'A. **pyraria** avec Bacilles symbiotiques phagocytés.

cytes des amas de symbiotes différents des symbiotes globuleux par leur sidérophilie plus prononcée ; on peut les considérer comme les formes intermédiaires entre Bacilles et symbiotes ordinaires.

## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ APHIS ATRIPLICIS

L'étude du mécanisme de la symbiose est particulièrement intéres-

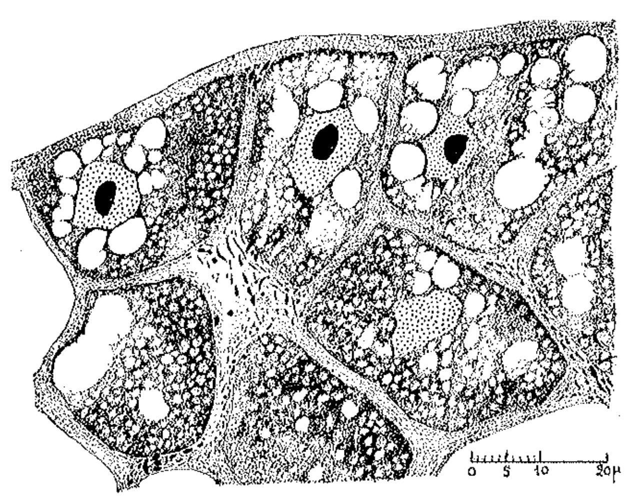



Fig. 239. — Coupe à travers l'hypoderme et le corps adipeux d'une femelle vivipare adulte d'A. **atriplicis**. Bacilles symbiotiques et formes de passage intercellulaires. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

sante chez cette espèce d'Aphide. Nous avons vu que les Bacilles symbiotiques étaient très nombreux chez les femelles vivipares adultes, mais

assez rares chez les jeunes larves. Si l'on examine une coupe de femelle très infectée après coloration par le Giemsa, on constate la présence de très nombreux Bacilles, non seulement dans les lacunes de la cavité générale, mais aussi à l'intérieur des cellules sanguines et des cellules adipeuses; on peut observer parfois aussi la présence d'amas bactériens

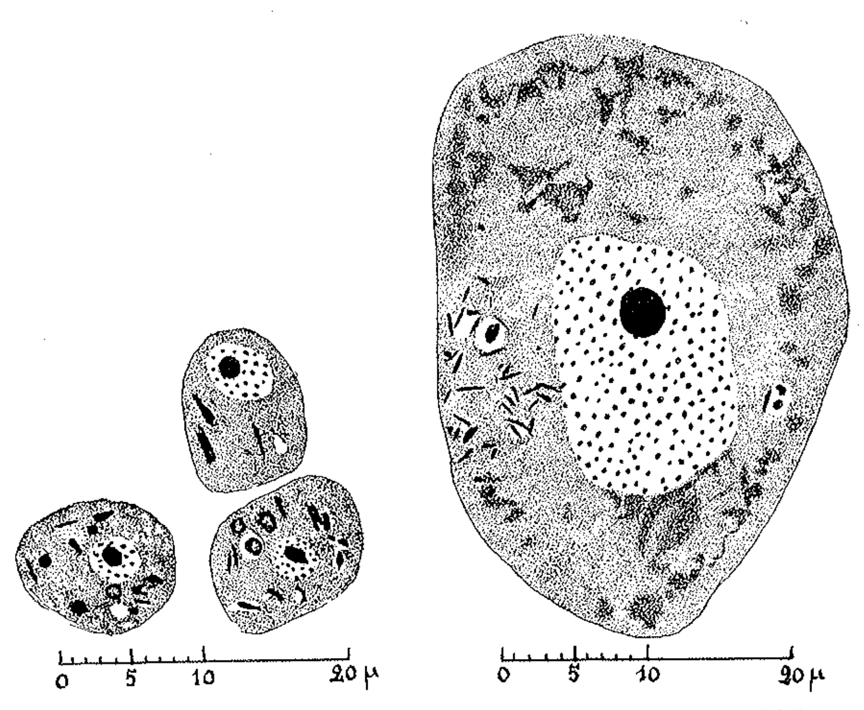



Fig. 240. — Amibocytes d'A. **atriplicis** avec Bacilles et formes de passage.

Fig. 241. — Grosse cellule glandulaire ou excrétrice d'A. **atriplicis** avec Bacilles et formes de passage intraprotoplasmiques.

à la surface des mycétocytes, mais ceux-ci ne sont jamais aussi volumineux ni aussi abondants que chez d'autres espèces de Pucerons comme **M. jaceæ** par exemple. Dans les cellules adipeuses, les Bacilles constituent des amas arrondis plus ou moins volumineux noyés dans la couche cytoplasmique homogène à leur niveau. Dans beaucoup de ces amas, on constate la présence simultanée de Bacilles normaux, de formes de passage et de symbiotes ordinaires ; les mêmes constatations peuvent être faites dans les cellules sanguines. Cellules adipeuses et sanguines fonctionnent donc comme des mycétocytes. Il y a lieu de noter toutefois que la présence des microbes ne détermine pas d'hypertrophie cellulaire comme cela se produit normalement dans les mycétocytes vrais.



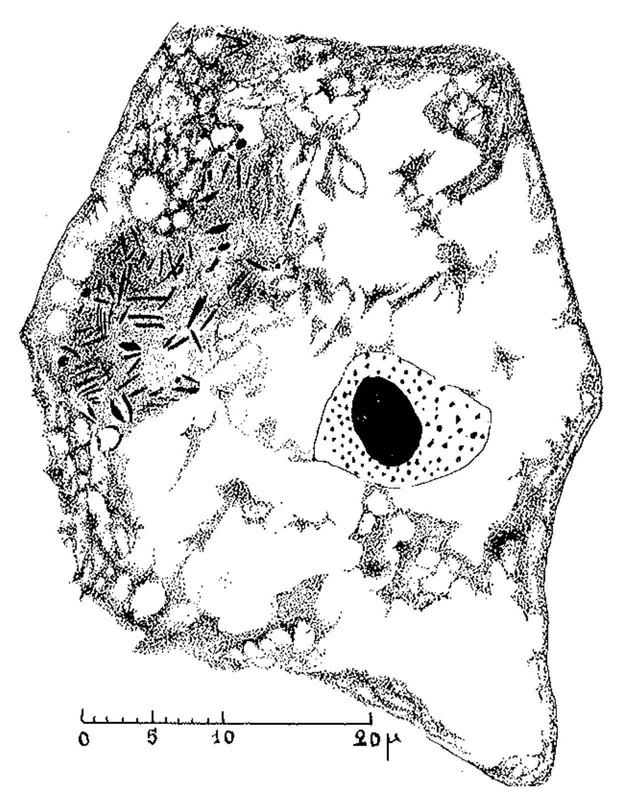



Fig. 242. — Cellule adipeuse d'A. **atriplicis** (femelle vivipare adulte) avec Bacilles et formes de passage intraprotoplasmiques.

Chez les embryons, les Bacilles sont localisés dans un syncytium analogue à celui qu'on observe chez **A. rumicis** et le Puceron noir du Plantain. Dans ce syncytium, les formes de passage peuvent être très nombreuses, on constate également la présence de symbiotes globuleux en proportion variable ce qui constitue une nouvelle preuve à l'appui de la thèse que je défends ici. Le syncytium disparaît dans les larves et se transforme vraisemblablement en mycétocyte.

Le mécanisme de la symbiose chez le Puceron du Chénopode apparaît donc plus complexe que chez les différentes espèces de Pucerons étudiées jusqu'ici. Le processus infectieux normal paraît se dérouler de la manière suivante chez la femelle vivipare adulte : il y a d'abord multi-

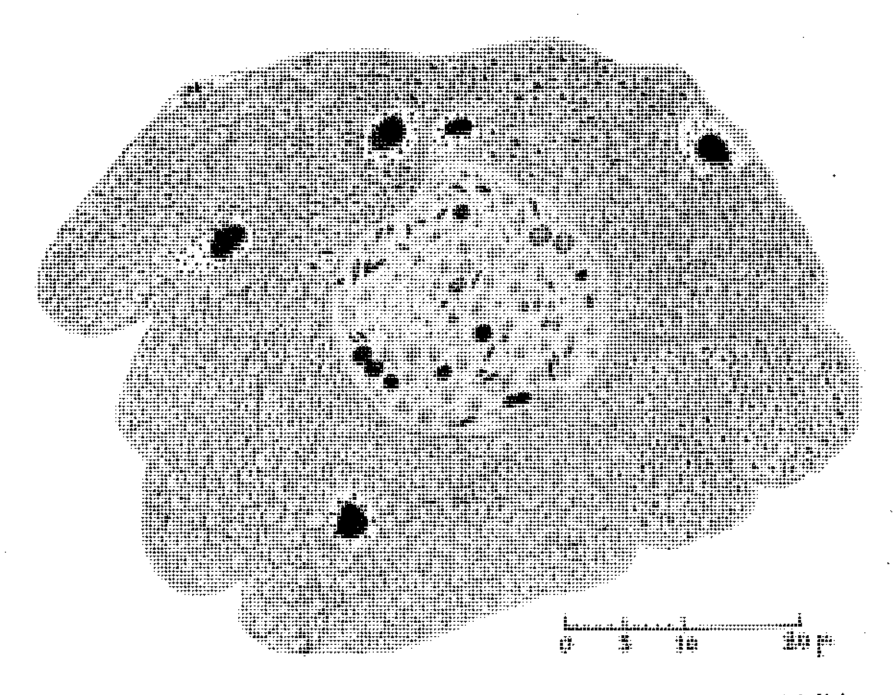



Fig. 243. — Coupe à travers le mycétome d'un jeune embryon d'A. **atriplicis.** Syncytium avec Bacilles, formes de passage et symbiotes globuleux, entouré de mycétocytes. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

plication intense des Bacilles dans le sang et pénétration à l'intérieur de certaines cellules mobiles et fixes par un processus analogue et peut être identique à celui de la phagocytose ; la multiplication exagérée des Bactéries déclenche des réactions d'immunité de type humoral qui rétablissent l'équilibre entre l'hôte et son parasite : bactériolyse intense dans le sang ; production de formes de croissance, puis de symbiotes globuleux, principalement à l'intérieur des cellules parasitées et au niveau des mycétocytes.



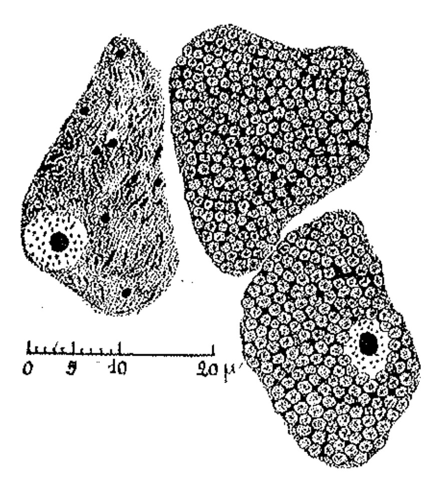



Fig. 244. — Mycétocytes d'A. **atriplicis** chez un embryon bien développé.

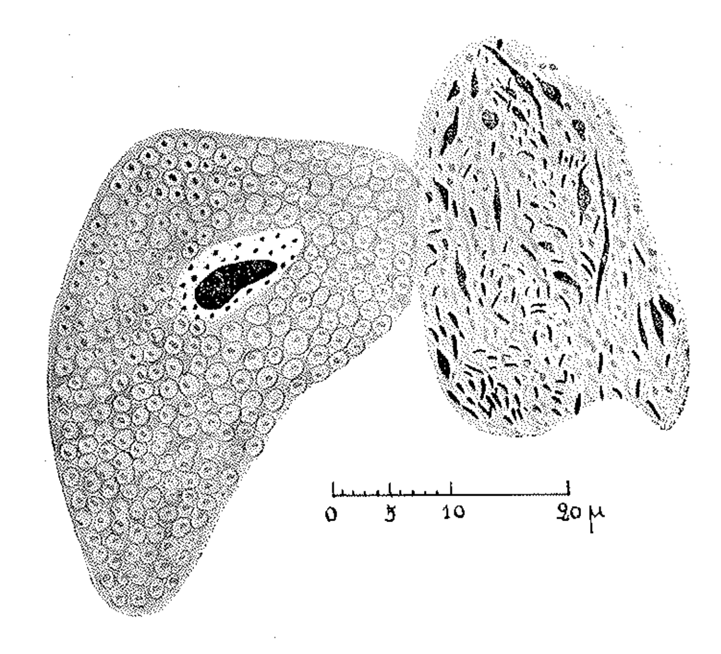



Fig. 245. — Mycétocytes d'A. **atriplicis** chez un embryon prêt à éclore.

## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ CHAIT. LYROPICTUS, CH. ACERIS ET CH. TESTUDINATUS

Chez **Chait. aceris** et **Chait. testudinatus,** les deux formes symbiotiques, dont la description a été donnée dans le chapitre précédent, occupent chacune des mycétocytes différents ; la plus grande doit être considérée comme la forme de croissance des symbiotes cocciformes.

Si l'on examine des coupes en série de **Chait. lyropictus** (générations d'été) après coloration par le Giemsa ou l'hématoxyline ferrique,

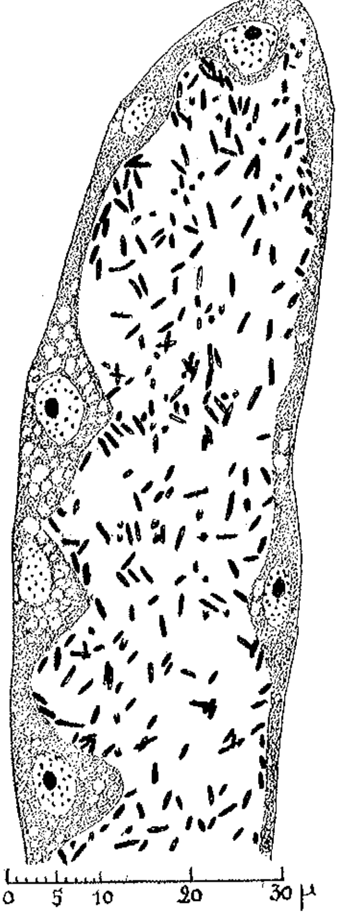



Fig. 246. — Coupe longitudinale à travers le tube digestif d'un embryon de **Chait. lyropictus** (femelle vivipare). Fixation au Helly ; coloration à l'hématoxyline.

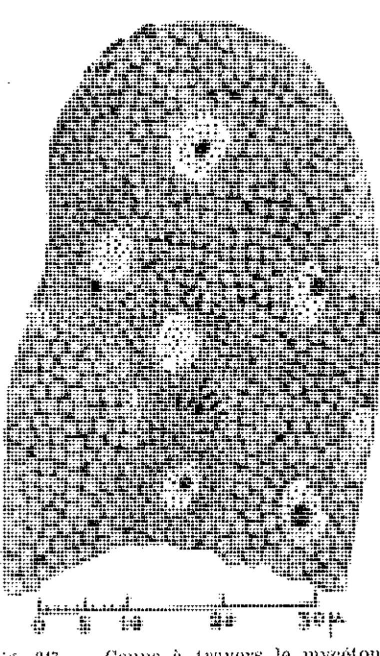


Fig. 247. — Coupe à travers le mycétome d'un embryon de **Chait. lyropictus** (même coupe que celle utilisée pour la figure précédente).

on constate tout d'abord que le tube digestif est sensiblement plus volumineux que dans les autres espèces d'Aphides sans toutefois que cette



dilatation anormale soit accompagnée de lésions cellulaires susceptibles de nuire au fonctionnement normal de l'organe ; l'intérieur du tube est rempli d'éléments microbiens de taille réduite dont quelques-uns seulement sont très sidérophiles ; la majeure partie est à peine teintée par

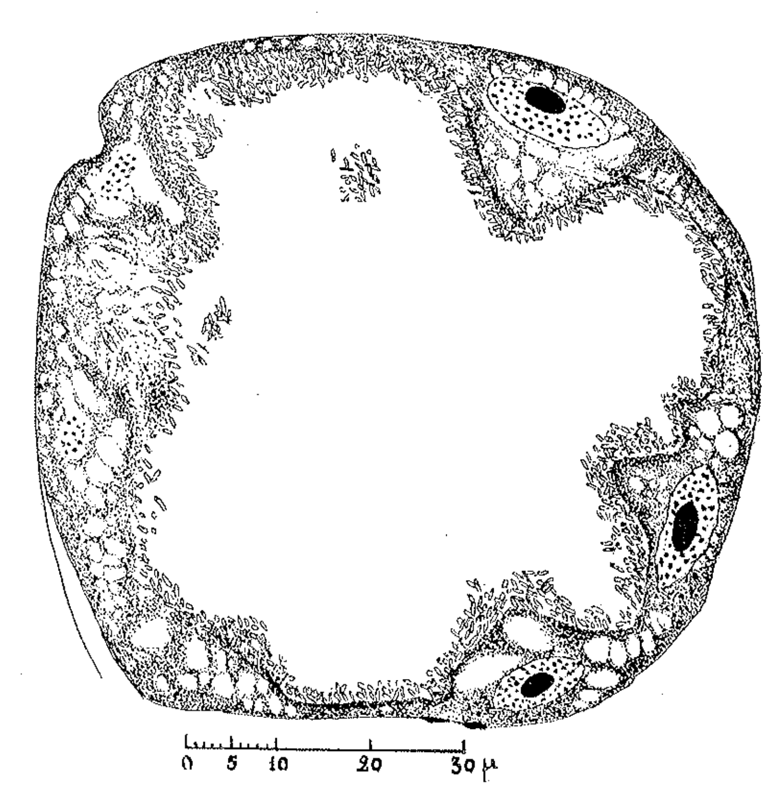



Fig. 248. — Coupe transversale à travers le tube digestif antérieur d'une femelle ovipare de **Chait. aceris**; infection intestinale en voie d'extinction. Fixation au Helly ; coloration à l'hématoxyline.

l'hématoxyline ou le Giemsa. Les mêmes éléments se retrouvent, mais en moins grand nombre, dans la cavité générale ; on les observe enfin, souvent disposés en amas, entre la gaîne ovarique de la mère et l'embryon, dans la cavité générale de celui-ci et surtout à l'intérieur du tractus intestinal en formation. Dans la cavité générale de la mère,

comme dans celle de l'embryon et dans le tube digestif de ce dernier, les éléments bacillaires sont généralement de grande taille et assez bien colorés.

Les Bacilles ensemencés largement sur gélose ordinaire ne donnent pas de culture positive. De même, ils ne se multiplient pas dans le

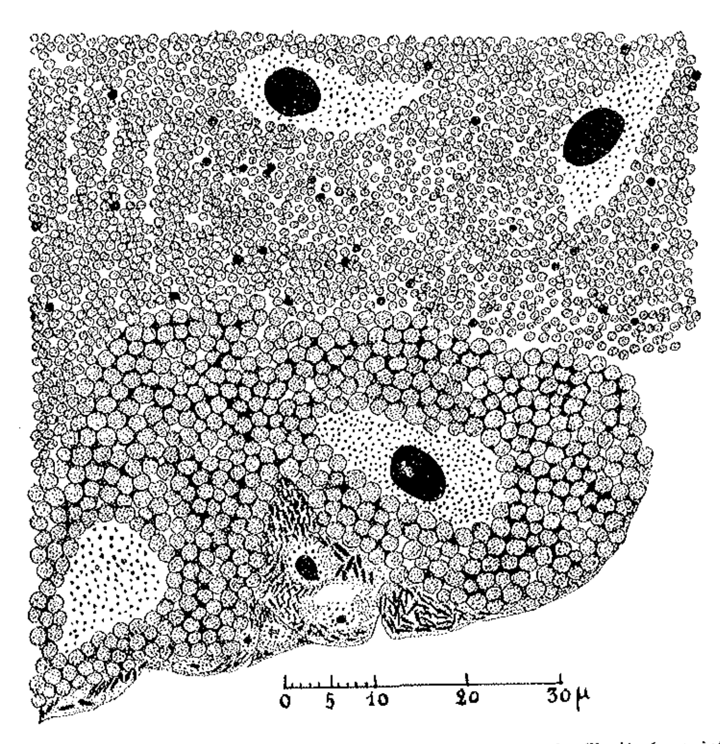



Fig. 249. — Portion du mycétome d'une femelle ovipare de **Chait. lyropictus**. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

sang du Ver à soie après injection dans la cavité générale d'une goutte de liquide de broyage de Chaitophores ; les Bacilles introduits ainsi en grand nombre dans le sang disparaissent assez rapidement. Cette destruction des éléments bacillaires est bien moins le résultat d'une réaction d'immunité véritable que la conséquence de l'extrême fragilité du microbe.

Chez les femelles ovipares de la génération sexuée d'automne, l'examen des coupes montre que l'infection du tube digestif, quand elle



existe, est beaucoup moins intense que chez les femelles vivipares des générations d'été. Le tube est sensiblement moins distendu et certaines portions de celui-ci ne renferment qu'un petit nombre d'éléments bacillaires formant une mince couche discontinue sur la bordure interne de la paroi épithéliale (Fig. 248).

Les mycétocytes sont énormes : les uns sont bourrés de symbiotes globuleux normaux ; les autres, de symbiotes cocciformes. Chez les Pucerons dont le tube digestif est en état d'infection, on observe souvent des amas de Bacilles plus ou moins volumineux à la surface des mycétocytes. Ces Bacilles se transforment progressivement en symbiotes cocciformes. La filiation entre les différents types de micro-organismes symbiotiques apparaît donc bien établie.

Les frottis et coupes de **Chait. lyropictus** non infectés par les Bacilles présentent le même aspect que ceux de **Chait. aceris** ou **Chait. testudinatus.** Morphologiquement, il est d'ailleurs à peu près impossible de distinguer les trois espèces de Chaitophores à cette période de leur existence. Il semblerait donc que les trois espèces n'en forment qu'une seule en réalité. On sait que cette thèse a été défendue autrefois par divers auteurs, en particulier par Buckton.

Au moment de l'éclosion des jeunes larves de Chaitophore, à la fin de l'hiver, on retrouve quelques rares Bacilles dans la cavité générale de quelques-unes d'entre elles ; mais aucune n'est en état d'infection intestinale. Ce n'est que plus tard, à la deuxième ou troisième génération, que cette infection se manifeste ; c'est à ce moment seulement que les caractères spécifiques du **Chait. lyropictus** deviennent apparents.

Des faits nouveaux que j'ai mis en évidence, on pourrait conclure que l'infection du tube digestif, qui est normale chez les Pucerons des générations parthénogénétiques d'été, a tendance à régresser ou même à disparaître complètement chez les Pucerons de la génération sexuée. Cette régression, dont la cause profonde nous échappe, n'est que la manifestation de réactions d'immunité antimicrobienne de types divers. La disparition des éléments bacilliformes peut être complète ; il ne reste plus alors, dans l'organisme, que les formes dites symbiotiques vraies étroitement localisées dans les mycétocytes. Le processus infectieux aboutit à un état d'équilibre stable qui caractérise la symbiose normale.

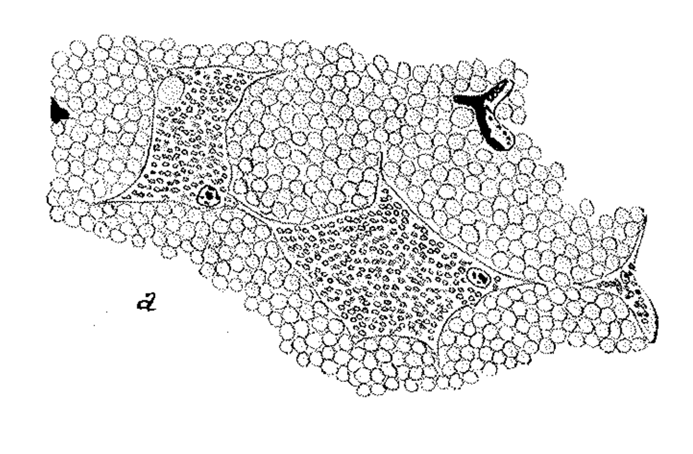
Ainsi les processus symbiotiques qui se déroulent dans l'organisme des Chaitophores au cours de leur évolution annuelle, représenteraient l'image en raccourci des processus qui se sont lentement déroulés à travers les âges dans les différentes espèces d'Aphides.

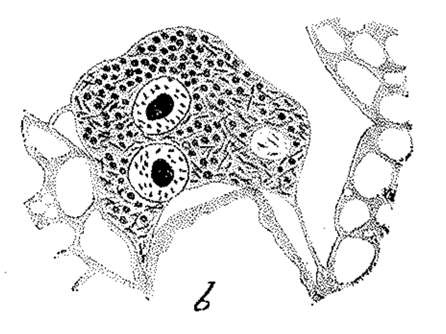
## MÉCANISME DE LA SYMBIOSE CHEZ PTEROCHLORUS ROBORIS ET STOMAPHIS QUERCUS, D'APRÈS KLEVENHUSEN

Chez **Pt. roboris,** KLEVENHUSEN a constaté l'existence de trois sortes de microorganismes symbiotiques : les symbiotes globuleux ordinaires, des Cocci mesurant 1 µ de diamètre en moyenne et des Bacilles en courts bâtonnets de 4 µ de long en moyenne. Les Cocci sont localisés à l'intérieur de cellules intercallées entre les mycétocytes (« Hüllzellen »). Des cellules à Cocci et bâtonnets se rencontrent en outre dans la cavité générale et dans le tissu adipeux ; on peut observer enfin des cellules isolées renfermant à la fois les deux sortes de microorganismes Les éléments en bâtonnets ne se rencontrent pas toujours dans le mycétome ; ils peuvent y former cependant des amas plus ou moins volumineux pourvus d'un ou deux noyaux. D'après les figures données par l'auteur et dont quelques-unes seulement ont été reproduites ici, il semble que les symbiotes cocciformes doivent être considérés comme la forme de passage entre les bâtonnets et les symbiotes globuleux. Les cellules à cocci que KLEVENHUSEN considère comme des cellules corticales, semblent devoir être assimilées à des phagocytes ordinaires ; les cellules à bâtonnets seraient également des phagocytes ; les unes et les autres seraient attirées par les mycétocytes et contribueraient à l'accroissement en volume du mycétome comme je l'ai observé chez d'autres espèces. Malheureusement, je n'ai pu étudier moi-même la symbiose chez le **Pterochlorus,** de sorte que mes déductions n'ont qu'une portée très restreinte.

Chez **Stomaphis quercus,** il existe également trois sortes de microorganismes symbiotiques d'après KLEVENHUSEN. Dans les embryons à demi-développés, les éléments bacilliformes se rencontrent dans des cellules uninucléées disposées entre les mycétocytes. L'auteur a observé en outre, entre le mycétome et l'intestin, des syncytia remplis d'élé-





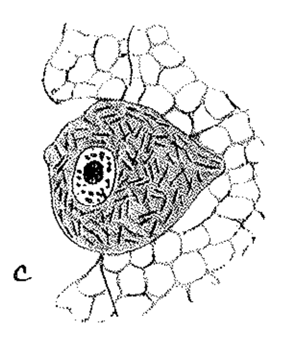




Fig. 259. — **Pterochlorus roboris. a,** « Hüllzellen » infectées du mycétome; **b,** Cellules à cocci; **c,** cellules à bâtonnets (d'après Klevenhusen).

ments de forme très variable. Tout porte à croire qu'il s'agit là de formes de passage entre les Bacilles vrais et les symbiotes globuleux.

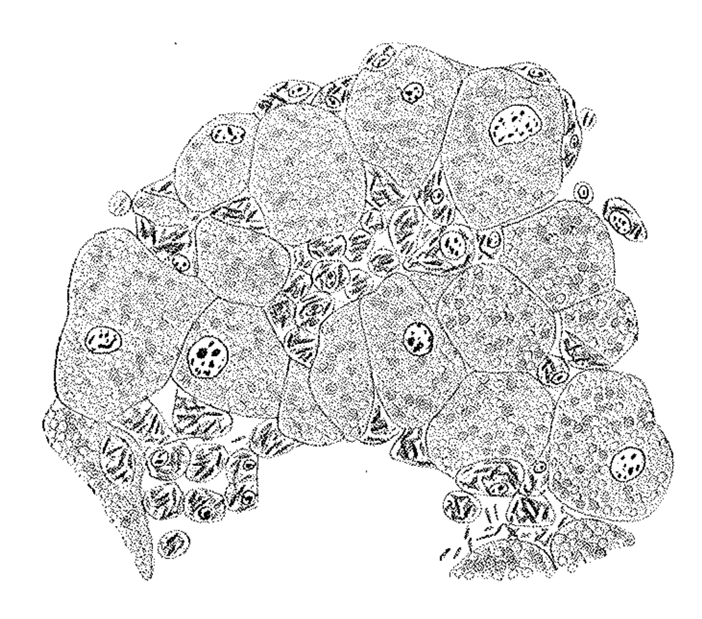


Fig. 251. — **Stomaphis quercus.** Partie du mycétome d'un jeune puceron avec deux espèces de symbiotes (d'après Klevenhusen).

L'exemple du **St. quercus**, si l'on s'en rapporte à la description et aux figures de KLEVENHUSEN, serait à rapprocher de ceux que je considère comme particulièrement démonstratifs pour la thèse que je défends.

CHAPITRE XX

# Transmission héréditaire des microorganismes symbiotiques.

Article I

## CONSIDÉRATIONS HISTORIQUES SUR L'EMBRYOGÉNIE DU MYCÉTOME

Dès l'année 1850, LEYDIG observait la première apparition du mycétome, dont la nature exacte était encore inconnue à cette époque, au moment de la formation du blastoderme.

HUXLEY, en 1858, observait la formation d'une masse centrale dans les œufs parthénogénétiques et lui donnait le nom de **pseudovitellus** ; c'est sous cette dénomination que la masse symbiotique a été généralement décrite jusqu'à ce qu'on ait reconnu la nature organisée de ses inclusions.

C'est à METCHNIKOFF qu'on doit la première étude fondamentale de l'embryogénie des Aphides ; son mémoire date de l'année 1866 et a été le point de départ d'un grand nombre de travaux consacrés à l'étude du développement embryogénique des Insectes. D'après METCHNIKOFF, la couche blastodermique étant définitivement constituée, la

partie postérieure du germe apparaît libre de cellules. La portion de vitellus qui occupe cette place croît surtout en longueur, d'où formation d'un bourrelet cylindrique. Les cellules qui se trouvent à la périphérie se multiplient ; leur rôle, comme celui de toute la formation, n'est pas apparu d'une grande importance à METCHNIKOFF, car il a constaté la disparition des noyaux au cours des stades ultérieurs ; le bourrelet se fond avec la paroi épithéliale du follicule et perd toute signification active par la suite. L'organe cylindrique apparaît séparé du reste de l'embryon par une cloison qui résulte du développement de

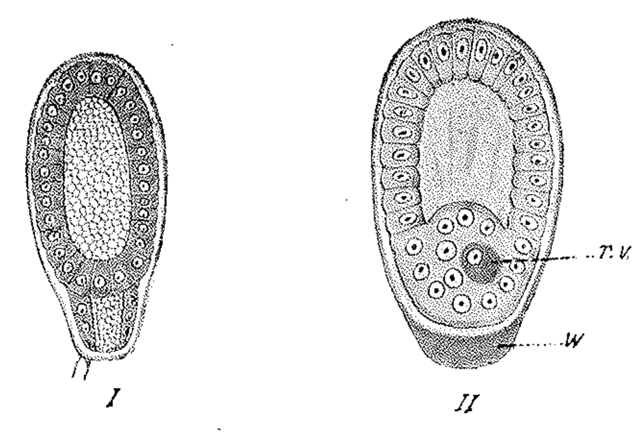



**Fig. 252.** — Embryologie d'**A. rosac** (d'après Metchnikoff). 1, Germe dont la partie inférieure est séparée du blastoderme. 2, Germe plus avancé ; différenciation de la cellule génératrice du pseudo-vitellus (r. v.).

la couche blastodermique dans la région postérieure. C'est le stade représenté dans la figure 252 (1). Les cellules de la cloison transversale se multiplient activement ; il se forme ainsi un amas de cellules dont le noyau ne se distingue pas de celui des autres parties du blastoderme. L'amas cellulaire grossit et forme bientôt une protubérance arrondie dans le vitellus central : c'est la « Keimhügel » de METCHNIKOFF (protubérance germinale). Une des cellules de cette protubérance se différencie de toutes les autres par sa taille et sa couleur verte (Fig. 252, II, **r. v.**) ; elle se multiplie et donne naissance à un amas de cellules avec protoplasme vert qui se séparent de la protubérance. L'amas cellulaire ainsi constitué se différencie du reste de l'embryon et constitue ce que METCHNIKOFF appelle **vitellus secondaire.** L'invagination



postérieure du germe se produit un peu avant l'apparition des cellules gonidiales. Au moment de la formation de l'amnios, la protubérance germinale grossit et apparaît sous forme d'un bouchon cylindrique. Nous verrons que la thèse de METCHNIKOFF comporte un certain nombre de vérités mais aussi des erreurs d'interprétation bien plus que des erreurs d'observation.

Une thèse originale, très différente de cette dernière, a été soutenue par BALBIANI. Elle a été excellemment résumée en ces termes par un auteur genevois contemporain de BALBIANI, CLAPARÈDE : « Dès les premiers temps de la vie embryonnaire, le blastoderme donne naissance à deux masses celluleuses juxtaposées : l'une incolore ; l'autre, pénétrée de granulations qui lui donnent une teinte verte ou jaune verdâtre. De ces deux masses, la première devient un ovaire ; la deuxième, un testicule dans lequel se développent des zoospermes en forme d'Amibes ; les zoospermes fécondent l'ovaire ; le testicule lui-même disparaît et les ovules fécondés commencent leur évolution dans l'intérieur même de l'embryon renfermé dans le corps de la mère. Partant, point de génération alternante pas plus que de parthénogénèse ».

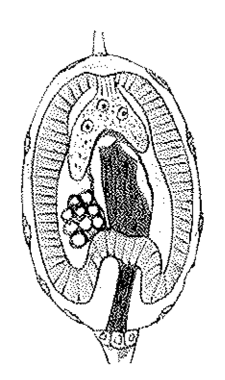


**Fig. 254.** — Début de l'invagination postérieure; la « masse verte » est encore reliée à la gaîne par le pédicule (Figure inédite de Balbiani reproduite par Henneguy).

Les soi-disant zoospermes décrits et figurés par BALBIANI correspondent aux microorganismes symbiotiques dont la nature exacte ne sera reconnue

**Fig. 253.** — Développement embryogénique d'un Puceron vivipare (**Drep. platanoïdes**). Gaine ovarique isolée contenant 4 œufs à 4 états de développement différents. Dans l'œuf le plus développé, on distingue à la base la masse de cellules génitales et la masse polaire ou masse verte (mycétome) reliée à la gaîne par le pédicule. (Figure inédite de Balbiani reproduite par Henneguy).

qu'en 1910 par SULC et PIERANTONI. « On serait facilement enclin, écrit BALBIANI, à les prendre pour une production végétale parasitaire si l'on n'avait pas sous les yeux toutes les phases successives de la transformation de ces éléments ».

CLAPAREDE a montré que chez l'Aphis de la rose, les cellules de la masse verte (c'est ainsi qu'il désigne le pseudovitellus) « engendrent dans leur intérieur un grand nombre de globules sphériques homogènes entre lesquels on distingue une foule de granules extrêmement fins. Ces globules sphériques sont les prétendues cellules-filles de Balbiani ». CLAPARÈDE se rallie finalement à la thèse de METCHNIKOFF sur le rôle de la masse verte.

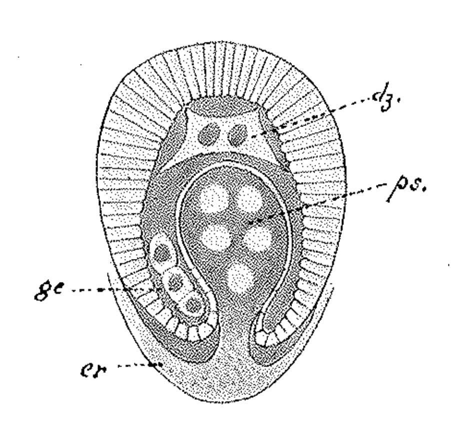


**Fig. 255. — Développement embryogénique d'A. platanoides, d'après Witlaczil. Germe au stade XI. Le pseudovitellus est largement développé à l'intérieur du germe ; dz, cellule vitelline ; ps, pseudovitellus ; ge, cellules génitales ; cr, follicule ovarien.**

WITLACZIL en 1884 a publié un important travail sur l'embryogénie des Aphides. D'après BUCHNER, WITLACZIL aurait commis des erreurs que METCHNIKOFF n'avait pas faites ; il me semble cependant que les faits mis en évidence par cet auteur ont rectifié beaucoup d'observations antérieures erronées. Ainsi la protubérance germinale qui, d'après METCHNIKOFF, est représentée par une masse composée de cellules fortement unies les unes aux autres, n'existerait pas. Au stade désigné sous le N° VII, la couche blastodermique comprend 64 cellules, les antérieures plus épaisses que les postérieures ; à ce stade, l'auteur observe la formation d'un bourrelet postérieur formé par le follicule à la suite de la croissance des cellules. Au stade IX, une cellule de la paroi épaissie du follicule grossit et par divisions forme un amas cellulaire au pôle postérieur qui repousse en avant la paroi postérieure du blastoderme formée d'une couche continue de cellules. L'amas formé reste uni à la paroi épithéliale par un pédoncule. Au stade suivant, le pseudovitellus pénètre à l'intérieur de l'œuf puis envahit presque complètement le blastocèle ; au moment où commence l'invagination postérieure, l'amas de cellules gonidiales se distingue nettement dans la partie postérieure de la poche blastodermique. Les processus d'invagination continuant de se dérouler, l'embryon prend la forme d'un S et le pseudovitellus est rejeté de côté. Le seul point sur lequel on peut discuter, en dehors de l'erreur, normale peut-on dire à l'époque où vivait WITLACZIL, c'est celui qui concerne l'origine folliculaire du mycétome embryonnaire. Il est très difficile en effet de savoir si ce mycétome résulte du développement d'une cellule folliculaire ou d'éléments blastodermiques.



WILL, en 1889, affirme que le vitellus secondaire prend naissance dans un épaississement de l'épithélium folliculaire, du côté du pôle postérieur de l'œuf, libre de cellules blastodermiques (blastopore).

HENNEGUY, dans son traité sur les Insectes paru en 1904 décrit ainsi la formation du pseudovitellus : « bientôt à la partie postérieure de la loge ovigère apparaît, à la partie interne de l'épithélium, une petite cellule pédiculée qui pénètre dans l'intérieur de l'œuf par son pôle postérieur, là où il n'y a pas encore de noyaux blastodermiques. Au point d'émergence de la cellule pédiculée, les cellules épithéliales s'épaississent de manière à former une protubérance de la paroi faisant saillie du côté externe ».

« L'œuf continue de grossir et de s'allonger. Lorsque le blastoderme est constitué, il forme un sac entourant la partie centrale de l'œuf non segmentée (vitellus nutritif rudimentaire) et présentant une ouverture postérieure par laquelle a pénétré la cellule épithéliale pédiculée. Cette cellule augmente de volume et se couvre de cellules-filles nées probablement par bourgeonnement. Il en résulte, à la partie postérieure de l'embryon, la formation d'une sorte de Champignon implanté par son pied dans la protubérance épithéliale et dont le chapeau refoule la masse vitelline ; ce champignon constitue la **masse polaire, masse androblastique** ou **androblaste** de BALBIANI ».

Les cellules se chargent ensuite de granulations pigmentaires généralement vertes. En définitive, HENNEGUY n'a pu se prononcer sur la véritable signification de la masse polaire qui pour lui reste énigmatique.

D'après TANNREUTHER qui étudia en 1907 le développement embryogénique de **Melanoxanthus salicis** et **M. salicicola,** le blastoderme forme une bande continue sauf au pôle postérieur où se trouve ainsi ménagée une ouverture, le blastopore ; de chaque côté de cette ouverture, le feuillet blastodermique s'invagine. Le vitellus secondaire provenant de l'épithélium folliculaire pénètre dans l'intérieur de la poche

blastodermique immédiatement après l'invagination. Les cellules épithéliales qui produisent le vitellus secondaire remplissent complètement la lumière de l'oviducte près de l'extrémité postérieure de l'œuf en voie de développement.

Dans l'œuf d'hiver en voie de développement, le vitellus secondaire est accolé à la partie invaginée du blastoderme. Il pénètre à l'intérieur de l'embryon et la partie non utilisée comme nourriture par celui-ci, pénètre à l'intérieur du corps et y demeure toute la vie dans une cavité entourant les organes reproducteurs.

Les travaux de SULC, comme je l'ai déjà dit, ont définitivement résolu le problème de la nature des inclusions pseudovitellines, mais ils n'apportent que peu de lumière sur les processus infectieux chez les embryons. Dans les animaux où les Champignons symbiotiques sont libres dans la lymphe, on comprend, dit-il, qu'ils pénètrent dans l'œuf par les espaces intercellulaires ; l'auteur n'a pu préciser la manière suivant laquelle se fait l'infection dans le cas où le Champignon est inclus dans les mycétocytes. Les faits suivants ont été observés chez **Aphis amenticola** : quelques Champignons libres ayant abandonné les mycétocytes, doivent pénétrer dans l'œuf par les espaces intercellulaires. Les mycétocytes se multiplient rapidement ; des figures de caryocynèse ont été observées par SULC. En définitive, les conclusions de cet auteur relativement à l'infection des embryons chez les Aphides sont des déductions générales bien plus que des conséquences d'observations précises.

D'après HIRSCHLER dont le travail sur l'embryogénie des Aphides a été publié en 1912, on observerait déjà le pseudovitellus (l'auteur conserve cette dénomination impropre) dans les œufs des femelles vivipares de **Rhopalosiphum nymphea** et **Aphis rosæ** avant la segmentation des cellules, observation qui n'avait été faite jusqu'ici que dans les œufs d'hiver. L'affinité pour les matières colorantes ne serait pas la même dans les ovules et dans les œufs en voie de développement ; alors que dans les premiers le pseudovitellus se colore avec les colorants acides comme l'éosine, dans les derniers, celui-ci se colore plutôt avec les colorants basiques comme l'hématoxyline. HIRSCHLER a observé que chez les Aphides vivipares dont le développement est susceptible d'être modifié par diverses conditions, la blastula peut être complètement close comme chez tous les Insectes ovipares ; mais elle peut être également ouverte, la partie libre de cellules étant occupée par une sorte de bouchon constitué par le pseudovitellus.



BUCHNER, en 1912, a montré que les symbiotes de **Drepanosiphum** sp. pénètrent dans les ovules des femelles ovipares à travers les cellules folliculaires de la région postérieure et s'accumulent au pôle postérieur. Les figures 273 et 274, reproduites d'après cet auteur, représentent les différents stades d'infection de l'œuf d'hiver.

Le développement embryogénique du mycétome et ses rapports avec les restes de l'embryon ont été bien étudiés par WEBSTER et PHILLIPS dans l'œuf d'hiver de **Toxoptera graminum**, Rodd. D'après ces auteurs,

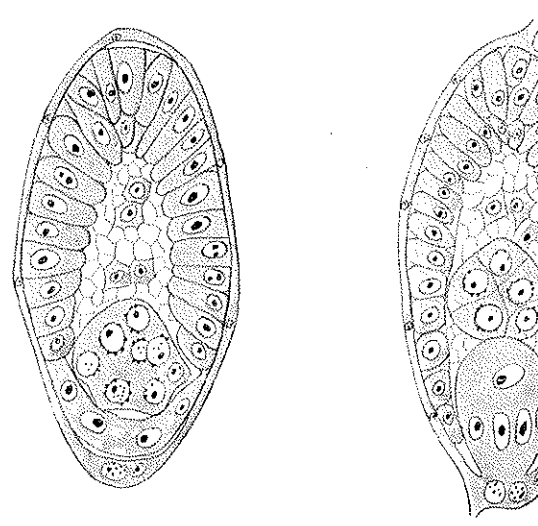


Fig. 256. — **Aphis sambuci.** Formation du syncytium basal à partir des cellules blastodermiques postérieures. Dans la figure **b**, la masse syncytiale apparaît soudée au follicule ; elle repousse dans l'intérieur du germe les cellules génitales (d'après Sell).

les noyaux qui pénètrent dans la masse symbiotique après la formation de la couche blastodermique sont d'origine vitelline. TANNREUTHER admettait au contraire que les noyaux du mycétome sont d'origine blastodermique.

SELL, un élève de BUCHNER, dont les observations ont été rapportées dans l'ouvrage de ce dernier auteur, n'a pu confirmer les conclusions de HIRSCHLER relativement à l'infection des ovules des femelles vivipares, ni celles de SULC concernant l'infection de l'œuf par pénétration des Champignons symbiotiques entre les cellules folliculaires, mais il a constaté au contraire que l'infection du germe suit la formation du

feuillet blastodermique et l'apparition des cellules gonidiales. La couche blastodermique apparaît tout d'abord incomplètement formée dans la région postérieure, observation déjà faite par d'autres auteurs, de sorte que la masse de vitellus affleure presque la surface de l'œuf. Ce stade représenté dans la figure 256 est identique à celui qui, d'après METCHNIKOFF, est caractérisé par la protubérance germinale, protubérance qui,

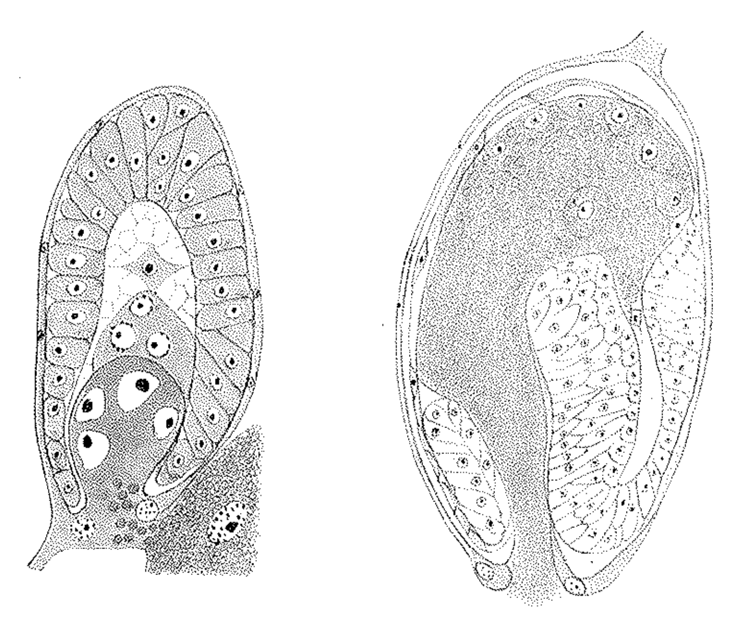


Fig. 257. — **Aphis sambuci**. Infection de l'embryon (d'après Sell).

selon son opinion, se sépare de la cloison cellulaire aplatie après destruction de l'organe cylindrique. Il suffit de comparer les figures de METCHNIKOFF et de SELL pour se rendre compte de la différence des interprétations des deux auteurs concernant le déroulement d'un même processus embryogénique. D'après SELL, la destinée des cellules blastodermiques placées en avant et en arrière de la masse des cellules gonidiales est très différente : antérieurement persiste un épithélium formé de cellules épaisses riches en plasma ; la portion postérieure, formée au contraire de cellules plus ou moins vacuolaires, s'en sépare nettement. Ces cellules se fondent tout d'abord en un syncytium dont le protoplasme est compact et fortement colorable ; les noyaux grossissent



et leur nucléole devient volumineux ; ainsi prend naissance une masse ovoïde qui se sépare du reste du blastoderme et est repoussée en avant comme la masse de cellules gonidiales (Fig. 256). La masse syncytiale qui représente l'ébauche du mycétome est soudée par son bord postérieur avec l'épithélium folliculaire fortement épaissi à ce niveau. Un courant continu de symbiotes s'établit entre les mycétocytes maternels voisins et le syncytium qui s'infecte rapidement et s'allonge, restant

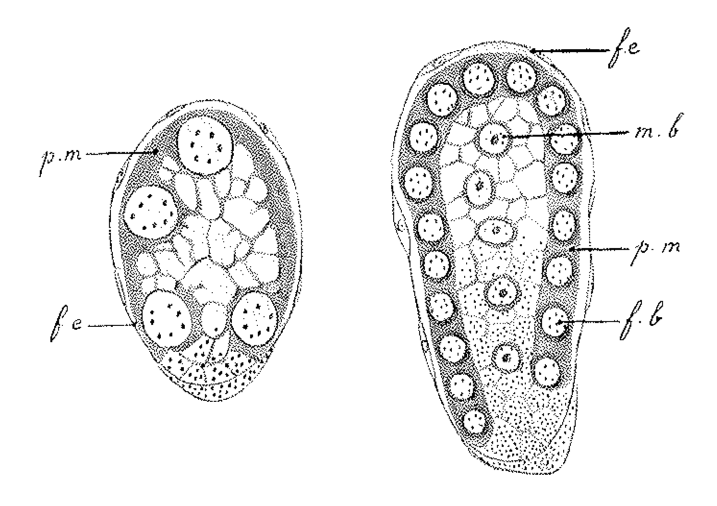



Fig. 258. — Développement embryogénique de **Macr. tanaceti**. Les points noirs figurés à la base de l'œuf, au début de son développement, représentent les symbiotes. **f.e**, follicule ovarien ; **f.b**, cellules blastodermiques ; **p.m.**, périplasme ; **m.b**, mycétoblastes, vitellophages (d'après Uichanco).

toutefois en liaison avec la cavité générale par un long et mince pédoncule toujours soudé à l'épithélium folliculaire. Les noyaux du syncytium se multiplient et donnent naissance aux noyaux définitifs des mycétocytes. SELL n'a pu confirmer l'observation de SULC relativement à la division mitotique de ces noyaux. L'afflux de symbiotes prend fin par fermeture de l'ouverture postérieure avant la double invagination antérieure au cours de laquelle se différencient l'amnios et la séreuse.

Dans un important travail consacré à l'étude du développement embryonnaire et post-embryonnaire des Aphides et publié en 1924, UICHANCO aboutit à des conclusions toutes différentes de celles de SELL. D'après cet auteur, les symbiotes envahiraient tout d'abord les cellules

folliculaires, puis pénètreraient à l'intérieur du germe par une ouverture de la couche blastodermique ménagée au pôle postérieur. L'ouverture se produisant dans la région où le follicule est en contact intime

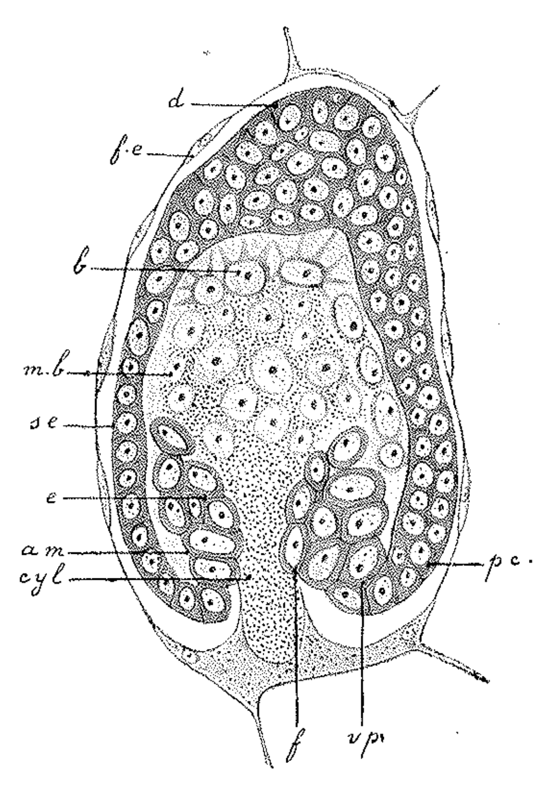



**Fig. 259.** — Développement embryogénique de **M. tanaceti.** Différenciation de la plaque ventrale et des lobes procéphaliques ; ségrégation des cellules germinales. **fe,** follicule ; **d,** portion antérieure épaissie du blastoderme; **se,** séreuse; **e,** portion de l'invagination secondaire du « germe cylindrique » au-dessus de l'amnios; **am,** amnios; **cyl,** « germe cylindrique »; **f,** portion de l'invagination secondaire du germe cylindrique au-dessus de la plaque ventrale; **vp,** plaque ventrale; **pc,** lobes procéphaliques; **b,** petits noyaux antérieurs; **mb,** mycétoblastes. Gross.: 1400 (d'après Uichanco).

avec la région postérieure de l'œuf, on peut supposer, dit l'auteur, qu'elle est déterminée par les sécrétions des symbiotes de l'épithélium folliculaire. Le follicule s'épaissit considérablement au point de contact avec l'œuf, particulièrement au moment où commence la vacuolisation de la paroi périplasmique ; cet épaississement détermine la production



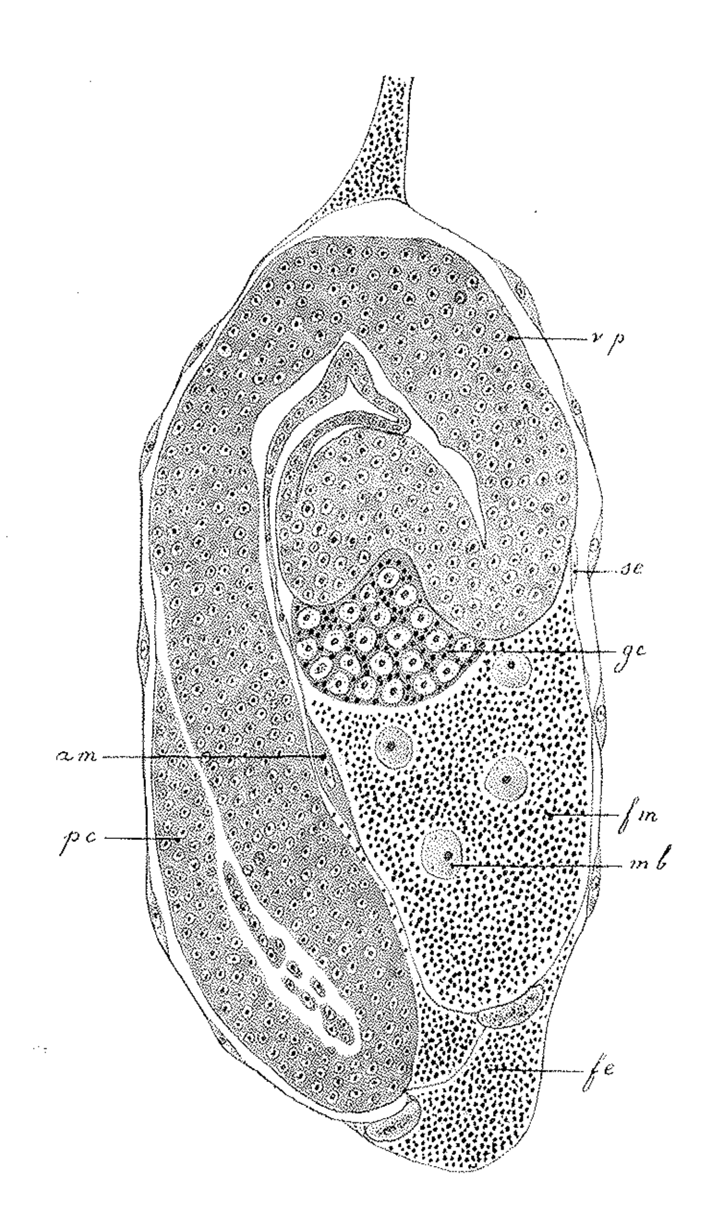



**Fig. 260.** — Développement embryogénique de **M. tanaceti.** Germe avant la segmentation métamérique de la bande germinale et la différenciation cellulaire des mycétocytes. Gross.: 1400 (d'après Uichanco).

d'une protubérance hémisphérique. En somme, les observations d'UICHANCO confirmeraient celles de SULC et HIRSCHLER.

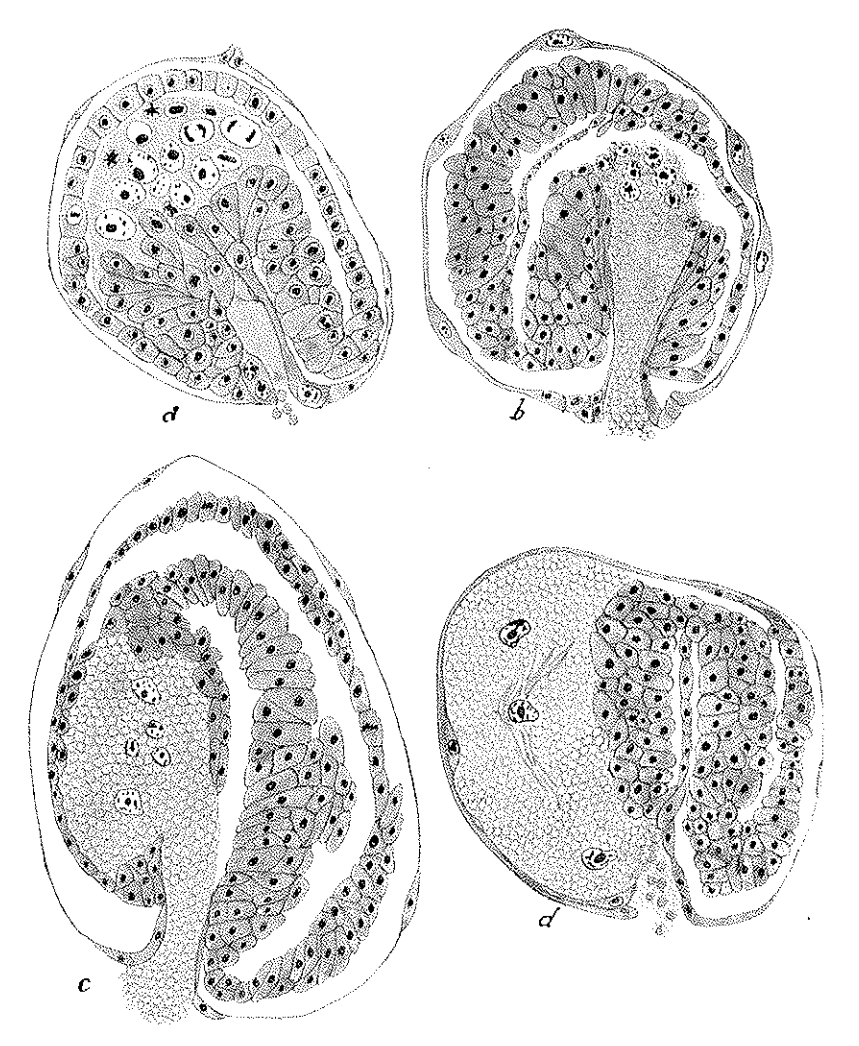



**Fig. 261.** — Différentes phases du développement embryogénique. a et d, de Tetraneura ulmi; b et c, de Macr. tanaceti. Gross.: 750 (d'après Klevenhusen).

Ces conclusions relativement à l'infection des cellules folliculaires ont été infirmées par KLEVENHUSEN qui a confirmé par contre celles de SELL concernant l'origine du mycétome. Cependant le type décrit par



ce dernier auteur ne serait pas le seul qui peut exister chez les Pucerons. Chez **Pterochlorus roboris** par exemple, comme dans l'espèce étudiée par SELL (**A. sambuci**, L.), la pénétration des symbiotes dans le germe est terminée alors que l'invagination postérieure est à peine commencée ; chez **Macr. jaceæ** au contraire, les symbiotes pénètrent encore dans le germe quand celui-ci affecte déjà la forme en S.

Comme WEBSTER et PHILLIPS, KLEVENHUSEN admet que les noyaux du vitellus de l'œuf d'hiver pénètrent dans la masse symbiotique pour former le mycétome.

Mentionnons, pour terminer cette revue bibliographique, une thèse originale soutenue par Franz SCHRADER à propos de l'origine des mycétocytes chez **Pseudococcus.** D'après cet auteur, ce ne seraient pas les cellules vitellines, comme on l'admet généralement, qui forment les mycétocytes dans l'œuf en voie de développement, mais des cellules géantes dérivées des globules polaires résultant des phénomènes de maturation de l'œuf. Les vues de SCHRADER n'ont été confirmées jusqu'ici par aucun auteur ; chez les Aphides, il apparaît bien démontré que les globules polaires n'ont rien à voir avec l'évolution des mycétoblastes.

## Article 2

## RECHERCHES PERSONNELLES SUR LE DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DU MYCETOME ET SUR L'INFECTION DE L'EMBRYON

Les phases successives du développement embryogénique des Pucerons, ainsi qu'il ressort de l'étude bibliographique qui vient d'être faite, sont connues depuis longtemps et les travaux modernes n'ont pas modifié sensiblement nos connaissances à ce sujet. Le point le plus controversé est sans contredit l'origine du mycétome et le mode d'infection du germe qui se développe au sein des femelles vivipares des générations d'été. Pour les uns, les mycétoblastes tirent leur origine du follicule ovarien ; pour les autres, du blastoderme. L'une et l'autre opinion ont été défendues avec un égal succès et il faut reconnaître qu'il est difficile de conclure d'après le seul examen histologique. Mes recher-

ches propres ont été entreprises dans le but de résoudre définitivement ces questions.

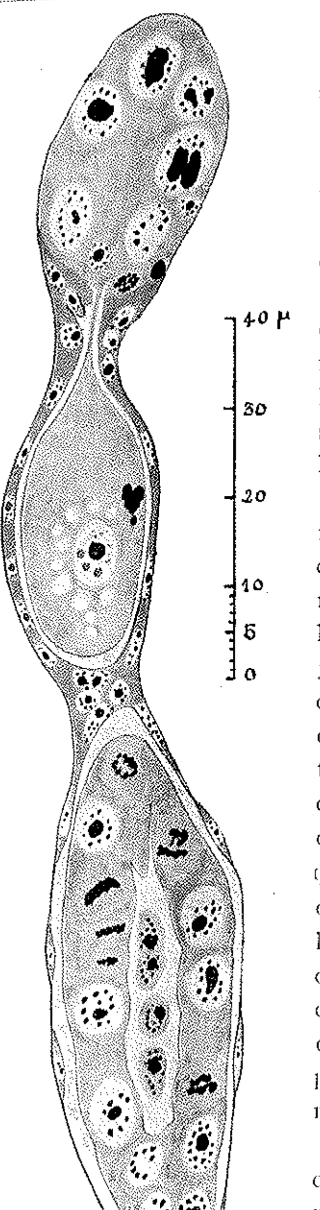
## LES PREMIÈRES PHASES DU DÉVELOPPEMENT EMBRYOGÉNIQUE CHEZ LES FEMELLES VIVIPARES

J'ai choisi comme matériel d'étude des espèces déjà bien étudiées par d'autres biologistes, en particulier : **Drepanosiphum platanoïdes, Macr. jaceæ, Siphonophora rosæ.** Pour étudier dans de bonnes conditions les premières phases du développement embryogénique, il est nécessaire de choisir de jeunes larves ; dans les femelles adultes, en effet, les embryons les plus jeunes n'arrivent jamais au terme de leur dévelopement et les processus embryogéniques peuvent être différents de ceux qui se déroulent normalement chez les autres dont le développement peut être considéré comme normal.

Si l'on examine des coupes en série de jeunes larves de fondatrices de **Drepanosiphum,** on peut suivre dans d'excellentes conditions les premières phases du développement.

Les organes reproducteurs comprennent deux groupes de follicules débouchant dans un canal commun, l'utérus, par l'intermédiaire de deux conduits très courts. Chaque follicule comprend trois parties : la chambre ovigène qui termine antérieurement le follicule, l'ovaire dans lequel se développent les œufs et l'oviducte. La chambre ovigène est formée de cellules nutritives à gros noyau et d'oocytes à noyau plus petit qui se détachent de la paroi et descendent dans l'ovaire où ils grossissent, mûrissent et se transforment en œufs. Dans l'œuf en voie de maturation, comme l'a montré TANNREUTHER chez **Melanoxantus salicis** et **M. salicicola,** la chromatine granuleuse du noyau se concentre en masses ; les chromosomes qui en dérivent se teintent de moins en moins par l'hématoxyline et l'aire nucléaire se présente comme une tache claire au milieu du cytoplasme granuleux et assez intensément coloré. Au cours de la maturation de l'œuf, un seul globule polaire est expulsé du noyau, mais reste dans le cytoplasme à la périphérie de l'œuf ; il est représenté en place dans l'ovule de la figure 262. Dans la région occupée par le noyau, le protoplasme devient vacuolaire. La paroi folliculaire, au niveau de l'œuf en voie de développement, est formée d'une couche de cellules aplaties ; à mesure que l'œuf grossit et que le germe






se développe, la couche folliculaire s'étire sans que le nombre des cellules augmente ; elle prend alors un aspect caractéristique bien visible dans la figure 262 et les figures suivantes. Les œufs ou les germes sont séparés les uns des autres, dans la gaîne ovarique, par une couche multicellulaire plus ou moins épaisse qui joue le rôle de cloison et qui fait partie de l'épithélium folliculaire. L'œuf reste en connexion avec les cellules nourricières de la chambre ovigène jusqu'à sa complète maturation par l'intermédiaire d'un ligament.

Au moment de la première division, le noyau de l'œuf est placé dans la région centrale ; aussitôt après cette division, les noyaux-fils émigrent vers la périphérie et les divisions se succèdent sans interruption jusqu'à ce que les cellules forment une couche ininterrompue ; c'est à cette couche que l'on donne le nom de couche blastodermique ou blastoderme ; la partie centrale, d'aspect vacuolaire, a la forme d'une poche : c'est la poche blastodermique ou blastocèle à l'intérieur de laquelle on distingue des cellules libres : les cellules vitellines. Le vitellus qui se trouve dans la poche blastodermique est beaucoup moins abondant que celui des œufs d'hiver ; il ne paraît jouer qu'un rôle peu important dans l'évolution du germe.

A un stade plus avancé de l'évolution embryogénique, une masse cellulaire multinucléée se différencie dans la région posté-

**Fig. 262.** — Extrémité d'une gaine ovarique de jeune femelle de **Drep. platanoïdes.** La partie terminale est constituée par les cellules nourricières et les cellules ovigènes plus petites. Remarquer dans l'ovule en voie de maturation, le globule polaire rejeté à la périphérie et les vacuoles de la région nucléaire. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

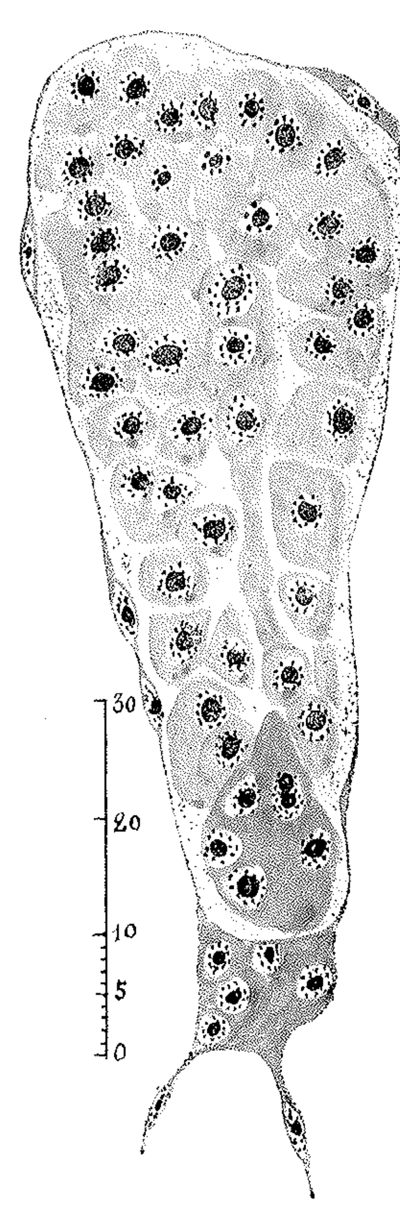



Fig. 263. — **Drep. platanoïdes.** Première apparition du syncytium **basal** à la fin du stade blastodermique.

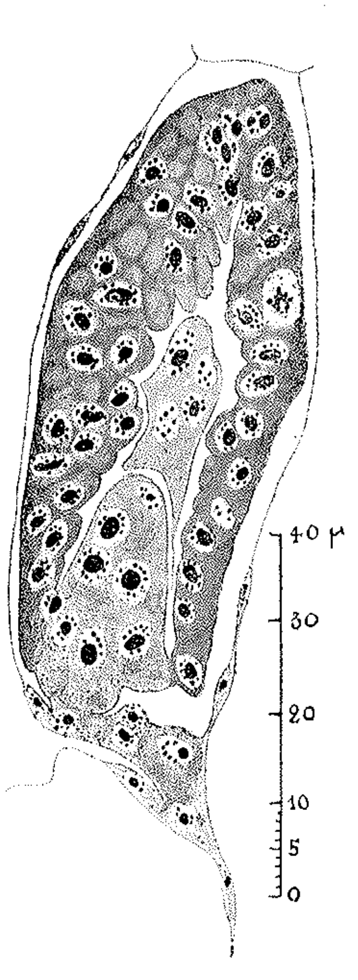



Fig. 264. — **D. platanoïdes.** Syncytium basal soudé à la paroi **folliculaire** épaissie.



rieure de l'œuf et apparaît généralement fusionnée avec la paroi folliculaire épaissie qui sépare les œufs ou embryons dans une même gaîne ova-

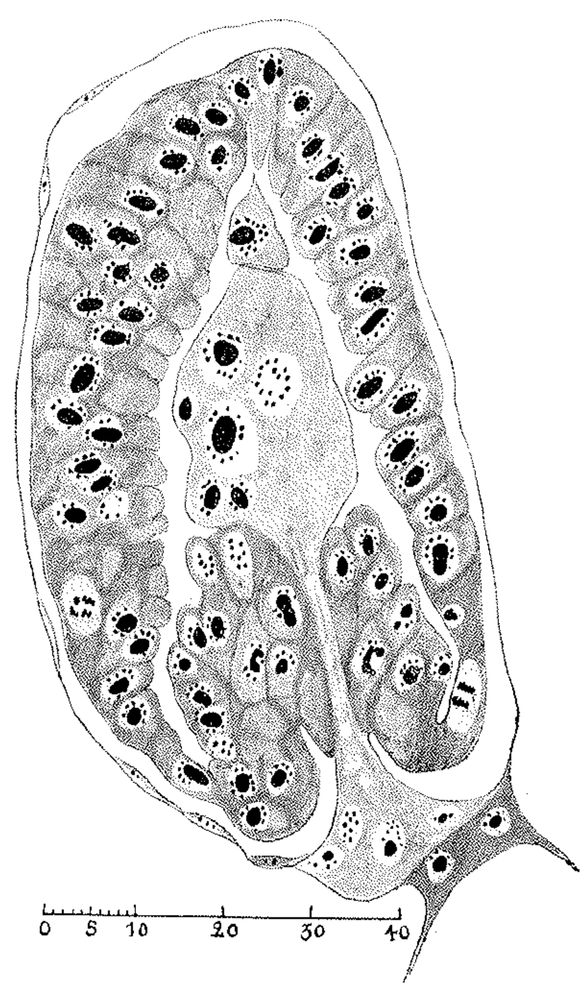



Fig. 265. — **D. platanoïdes.** Début de l'invagination postérieure du germe ; le syncytium ébauche du futur mycétome, est repoussé vers la partie antérieure.

rique. Tout porte donc à croire que cette masse résulte d'un bourgeonnement de la paroi épithéliale comme l'ont admis certains auteurs. L'examen des fig. 264 et suivantes, toutes dessinées à la chambre claire, donne

bien cette impression. Cependant, j'ai pu constater, sur certaines coupes, que la masse syncytiale de la région postérieure du germe était indépendante, à l'origine, de la cloison folliculaire ; on ne peut donc la

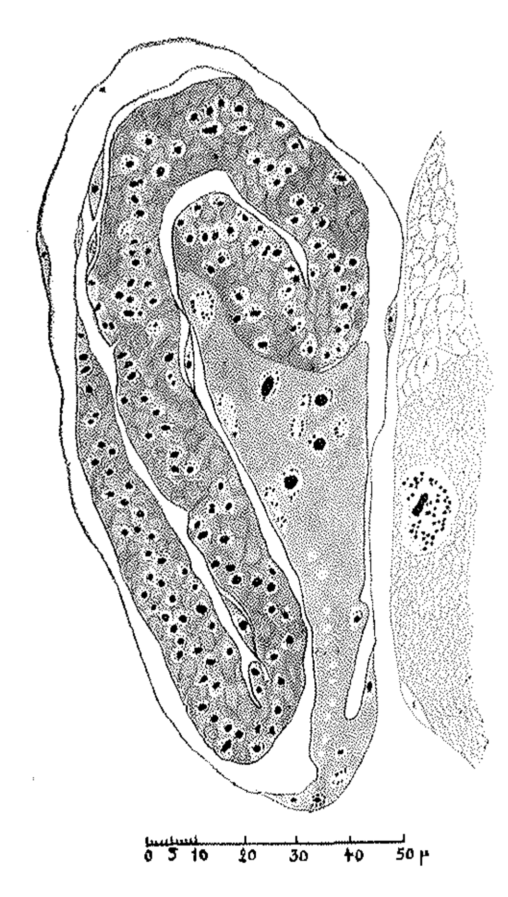



Fig. 266. — **D. platanoïdes.** Embryon à la fin de la double invagination (forme en S) ; mycétome embryonnaire non infecté relié à la paroi folliculaire; à côté du germe, 2 portions de mycétocytes maternels.

considérer comme un bourgeonnement de cette cloison. Cette observation confirme les conclusions de SELL et BUCHNER sur l'origine blastodermique du syncytium, ébauche du futur mycétome. La phase pendant laquelle le syncytium différencié est libre postérieurement doit être de



courte durée ; c'est ce qui explique que dans la plupart des coupes ce stade passe inaperçu. Très rapidement, la masse cytoplasmique du syncytium se fond avec le cytoplasme folliculaire et l'aspect est celui représenté par exemple dans la figure 264. Contrairement à ce que SELL a observé chez **Aphis amanticola,** l'infection du germe ne se produit pas à ce moment de l'évolution embryogénique du Puceron chez **Drep. platanoïdes.**

L'invagination postérieure commence autour du syncytium qui s'étire vers la région antérieure de l'œuf et forme une masse assez volumineuse qui remplit presque entièrement l'intérieur de la poche blastodermique. Cette masse, dont les noyaux sont caractérisés par leur nucléole beaucoup plus volumineux que celui des autres cellules, reste en liaison étroite avec la cloison folliculaire par l'intermédiaire d'un long et mince ligament plus ou moins vacuolaire.

La deuxième invagination antérieure qui aboutit à la formation de l'amnios et de la séreuse et à la fin de laquelle le germe affecte la forme d'un S, a lieu sans que se produise l'infection du mycétome embryonnaire. Ce stade est représenté dans la figure 266 ; on distingue nettement la masse syncytiale volumineuse avec ses noyaux pourvus chacun d'un énorme nucléole ; elle occupe tout l'espace compris entre la branche principale de l'S, l'extrémité postérieure repliée de la bande germinative qui représente la région abdominale de l'embryon et la paroi folliculaire très amincie. Elle apparaît généralement allongée contre le mycétome maternel dont elle n'est séparée que par la paroi du follicule. Contrairement à ce qu'on pourrait supposer, les symbiotes ne passent pas directement du mycétome dans la masse syncytiale voisine à travers le follicule, mais suivent toujours la voie marquée par le pédoncule qui relie cette masse à la cloison folliculaire épaissie comme on peut le constater d'après la figure 267 ; les symbiotes détachés des mycétocytes voisins pénètrent dans la masse syncytiale par la base folliculaire du pédoncule. Au moment de cette pénétration, le proctodeum commence de se différencier dans le repli formé par la portion céphalique de la bande germinale.

Avec les symbiotes ordinaires de forme plus ou moins allongée, pénètrent les Bactéries d'où ils tirent leur origine ; on distingue parfois aussi des formes de passages reconnaissables à leur sidérophilie prononcée et à leur aspect contourné et souvent moniliforme ; mais elles sont beaucoup moins nombreuses que dans les œufs d'hiver au début de leur

évolution embryogénique. Elles proviennent directement du mycétome maternel.

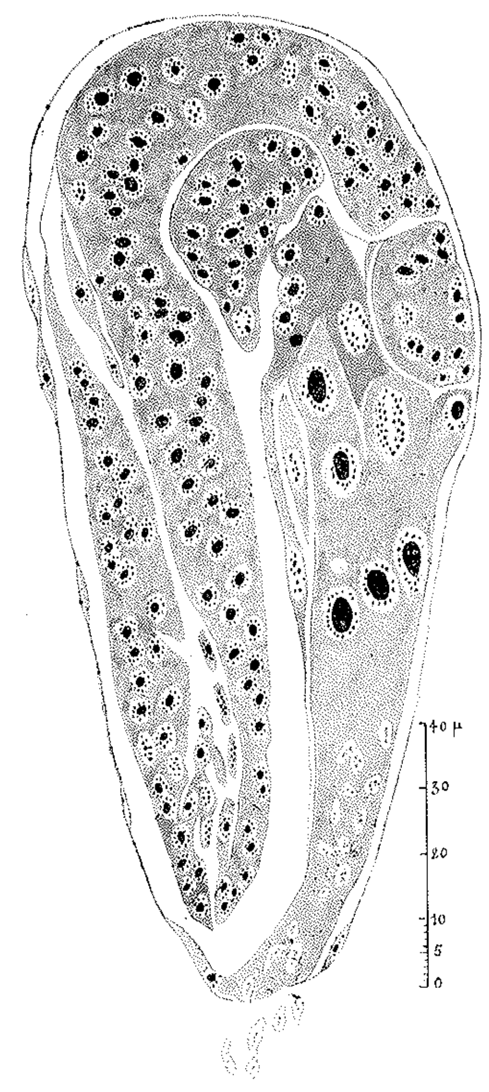



Fig. 267. — **D. platanoïdes.** Début de l'infection du germe.

Les mycétocytes s'individualisent lorsque l'infection du germe est terminée. Comme SELL, je n'ai pas observé de division mitotique des



noyaux du mycétome embryonnaire, mais seulement des figures de division simple.

Des processus analogues à ceux qui viennent d'être décrits ont été observés chez **Chaitophorus aceris** (fondatrices) ; chez les femelles vivipares issues des fondatrices, le développement du mycétome ne présente pas de modification appréciable.

Si l'on compare les processus qui se déroulent chez **Drepanosiphum** et **Chaitophorus** avec ceux décrits par KLEVENHUSEN chez **Macrosiphum jaceæ** et **M. tanaceti** par exemple, on note des différences appréciables dans l'évolution embryogénique du mycétome et dans la marche des processus infectieux. Dans ces deux dernières espèces, l'infection du germe se produit plus tôt que dans les deux autres.

### Evolution embryogénique du mycétome et infection du germe chez les femelles vivipares de M. jaceæ.

KLEVENHUSEN a constaté le début de l'infection du germe (Fig. 261) vers le moment où prend fin la première invagination postérieure.

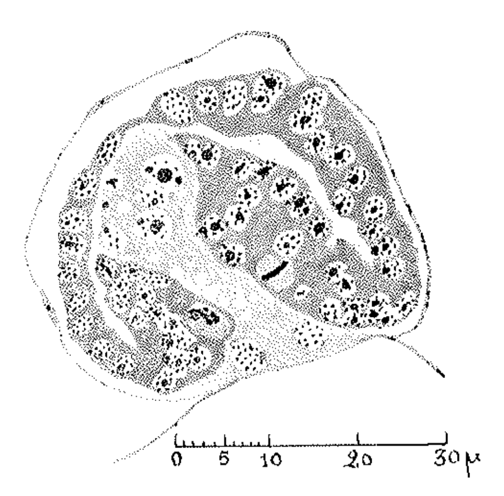



Fig. 268. — **Macr. jaceae** (jeune femelle parthénogénétique). Coupe tangentielle à travers un germe à la fin de la première invagination postérieure. La masse syncytiale, ébauche du futur mycétome, est repoussée vers la partie antérieure. Fixation au Helly ; coloration à l'hématoxyline.

D'après mes observations propres, l'infection peut commencer plus tard ; au stade représenté dans la figure 268, la première invagination

est terminée sans qu'on observe de symbiotes libres dans la région postérieure du germe, c'est-à-dire à l'endroit où ils pénètrent à l'intérieur de celui-ci. Le syncytium, qui représente l'ébauche du futur mycétome,

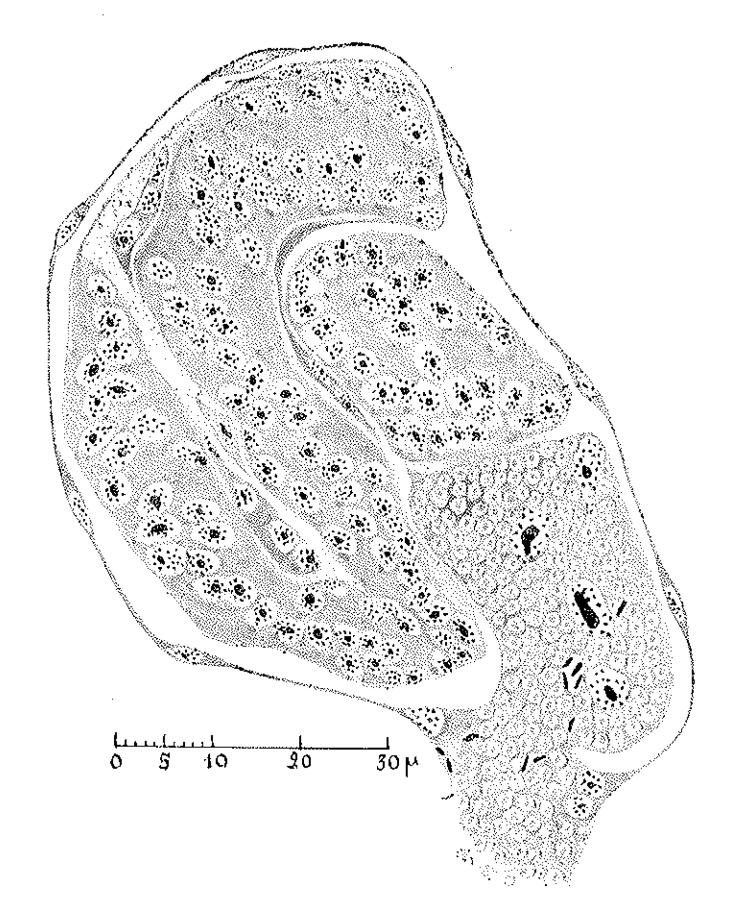



Fig. 269. — Macr. jaceae. Infection du germe; l'infection continue après la double invagination. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

est relié à la base folliculaire épaissie par un pédoncule assez mince plus ou moins vacuolaire. Comme celui de **Drepanosiphum**, il tire son origine du blastoderme. L'infection du germe continue lorsque celui-ci affecte déjà la forme d'un S, mais elle prend fin plus tôt que chez le Drepanosiphum et le Chaitophore.



Bacilles et symbiotes globuleux pénètrent simultanément dans le syncytium ; on en distingue quelques-uns isolés ou groupés dans l'intérieur de la masse symbiotique représentée dans la figure 270. En étu-

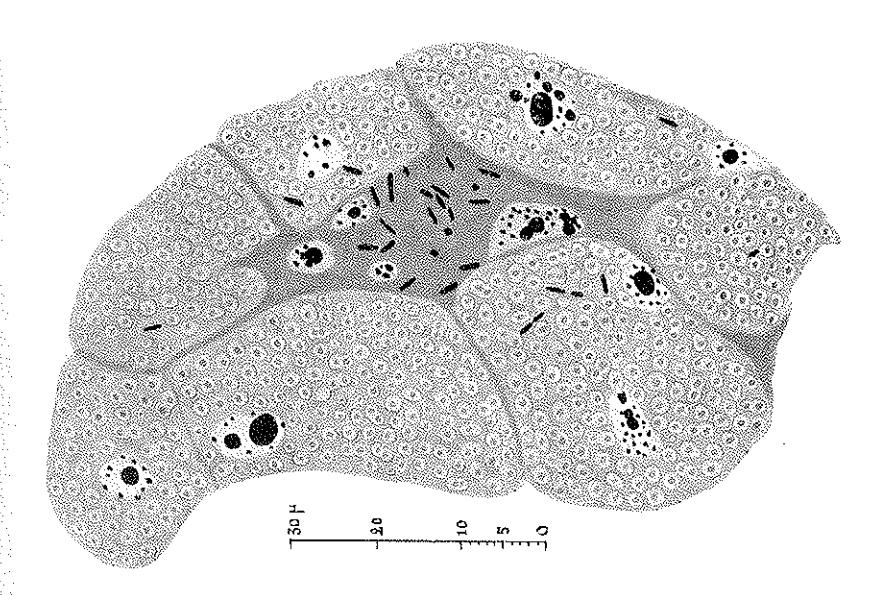



Fig. 270. — Coupe à travers le mycétome d'un jeune embryon de femelle vivipare de M. jaceae. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

diant le mécanisme de la symbiose, nous avons vu que les Bactéries symbiotiques, par leur multiplication dans le mycétome de l'embryon, déterminaient la formation d'une masse syncytiale bactérienne et d'amas bactériens plus ou moins volumineux au niveau de mycétocytes divers.

### Evolution embryogénique et infection du germe chez Siphonophora rosæ.

Les premiers stades du développement embryonnaire chez les femelles vivipares de **Siphonophora rosæ** ont été longuement décrits par Uichanco, mais des erreurs importantes, déjà relevées par Klevenhusen et Buchner, ont été commises par cet auteur, notamment en

ce qui concerne l'infection préalable des cellules folliculaires et l'origine du mycétome.

Comme chez **D. platanoïdes, Chait. aceris, M. jaceæ,** on observe à la partie inférieure du germe, à la fin du stade blastodermique, un

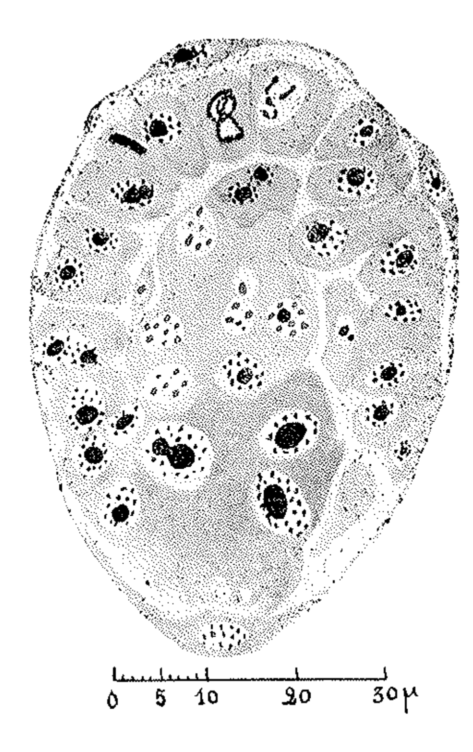



Fig. 271. — **Siphonophora rosae** (œuf parthénogénétique). Coupe tangentielle à travers un germe parvenu à la fin du stade blastodermique; masse syncytiale basale soudée à la paroi folliculaire. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

syncytium pourvu de noyaux à gros nucléole dont la substance cytoplasmique se fond avec celle des cellules folliculaires de la cloison transversale. Cette masse syncytiale n'a pas été figurée par UICHANCO. L'infection du germe commence dès le début des processus d'invagination et se termine avant le début de la deuxième invagination antérieure au cours de laquelle se différencient l'amnios et la séreuse. Tout se passe



donc comme chez le Puceron étudié par SELL. Symbiotes ordinaires et

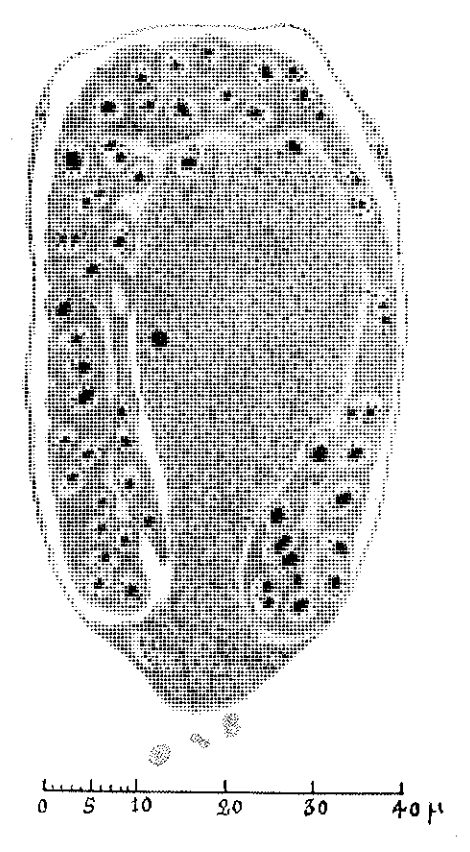



Fig. 272. — **S. rosae.** Infection du germe. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

symbiotes cocciformes pénètrent simultanément dans le germe et envahissent la masse syncytiale.

## Autres types de développement embryonnaire.

Chez un grand nombre d'Aphides, l'infection du germe commence de très bonne heure, mais jamais avant la fin du stade blastodermique

marquée par l'apparition de la masse syncytiale postérieure. En dehors du cas d'**Aphis sambuci** étudié par SELL dont j'ai pu confirmer les observations, on peut citer ceux d'**Aphis pyraria, A. rumicis, Aphis** sp. (plantain), **A. mali, A. forbesi.**

Chez **M. tanaceti** dont le développement a été bien étudié par KLEVENHUSEN, l'infection du germe se manifeste sensiblement comme chez **M. jaceæ.** De même chez **Tetraneura ulmi,** KLEVENHUSEN a constaté la continuation du processus infectieux du germe après la double invagination.

J'ai observé chez **Eriosoma lanigerum** des figures qui tendraient à faire croire que l'infection du germe commence avant la fin du stade blastodermique et prend fin avant le début des processus d'invagination. L'observation peut être faite en particulier chez les femelles vivipares adultes vers l'extrémité des gaînes ovariques, c'est-à-dire sur des germes qui n'arrivent pas normalement au terme de l'évolution embryogénique. Les germes se présentent sous l'aspect de masses ovoïdes limitées extérieurement par une couche continue de cellules plus ou moins aplaties représentant les cellules blastodermiques ; l'intérieur du germe est rempli de symbiotes globuleux. Il s'agit là, très certainement, d'une anomalie causée par un arrêt dans le déroulement des processus embryogéniques.

Déjà KLEVENHUSEN s'était posé la question de savoir si les modifications observées dans les processus embryogéniques, suivant les espèces étudiées, sont indépendantes de la situation de l'embryon dans le corps de la mère. Les différences constatées par l'auteur allemand et par moi-même sont sans aucun doute d'ordre spécifique ; mais il peut exister aussi des différences individuelles dont la cause doit être cherchée dans la situation du germe ou plus exactement, dans la place occupée par celui-ci dans la gaîne ovarique.

## LES PROCESSUS SYMBIOTIQUES DANS L'ŒUF D'HIVER DES APHIDES

Depuis longtemps déjà on a montré que les symbiotes (éléments du pseudovitellus des anciens auteurs) pénètrent dans l'œuf mûr à travers la paroi folliculaire et s'accumulent au pôle postérieur.

BUCHNER a étudié en détail chez **Drepanosiphum** sp. les diverses phases du processus infectieux. Il a montré en particulier que les symbiotes pénètrent : soit à travers les cellules de la paroi folliculaire où on les observe dans les vacuoles cytoplasmiques, soit dans les espaces lacu-



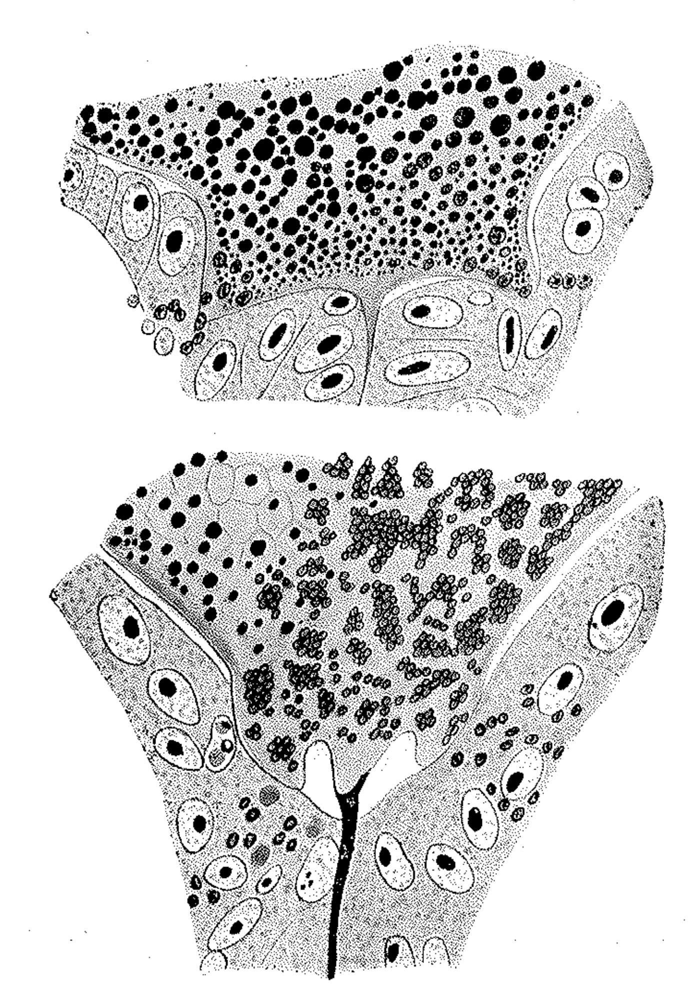


Fig. 273. — Infection de l'œuf d'hiver de **Drepanosiphum** sp. (d'après Buchner).

naires qui séparent ces cellules. Le chorion de l'œuf, malgré son épaisseur, n'oppose pas de résistance à la pénétration des symbiotes. BUCHNER a décrit et figuré au pôle postérieur de l'œuf une sorte de sillon circulaire entourant étroitement un petit appendice qui s'enfonce à l'in-

térieur de la paroi folliculaire basale (Fig. 273) ; d'après lui, ce pédoncule prend naissance en connexion avec le ligament nutritif résorbé depuis le moment où l'œuf se remplit de vitellus. C'est dans cette région assez étroitement limitée que les symbiotes traversent le chorion.

Si l'on examine des coupes en série de femelle ovipare adulte après fixation au Helly et coloration par l'hématoxyline ferrique, on distin-

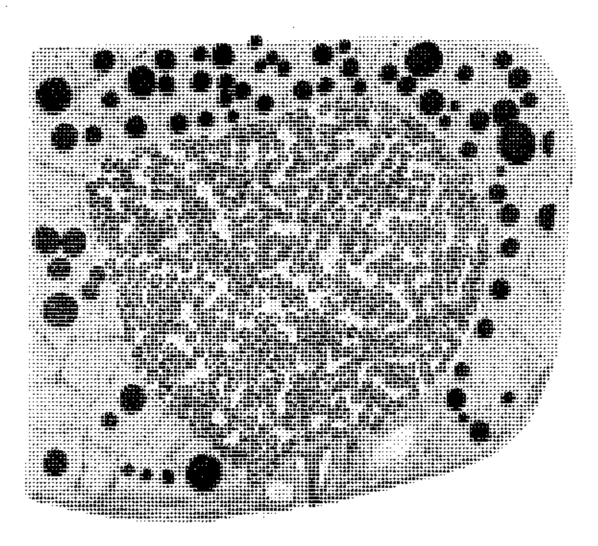


Fig 274. — Portion postérieure de l'œuf d'hiver de **Drepanosiphum** sp. avec la masse symbiotique polaire (d'après Buchner)

gue très nettement, au pôle postérieur de l'œuf prêt à être fécondé, un pédoncule fortement coloré en noir par l'hématoxyline. Au moment où les symbiotes commencent à pénétrer dans l'œuf, l'appendice formé par celui-ci au pôle postérieur et qui se relie au pédoncule (Fig. 275) n'est pas coloré par l'hématoxyline. La pénétration des symbiotes a lieu de chaque côté de l'œuf dans la région postérieure ; ils sont très nettement visibles dans les espaces lacunaires qui séparent les cellules folliculaires ; mais je n'ai pu confirmer les observations de BUCHNER relativement à la présence de symbiotes à l'intérieur de ces cellules. La voie suivie par les symbiotes n'est pas à proprement parler un canal vide, mais un espace lacunaire rempli par la substance qui s'écoule de l'œuf.



Les symbiotes figurés par BUCHNER dans les œufs de **Drepanosiphum** sont de forme arrondie ; ceux que j'ai observés moi-même sont

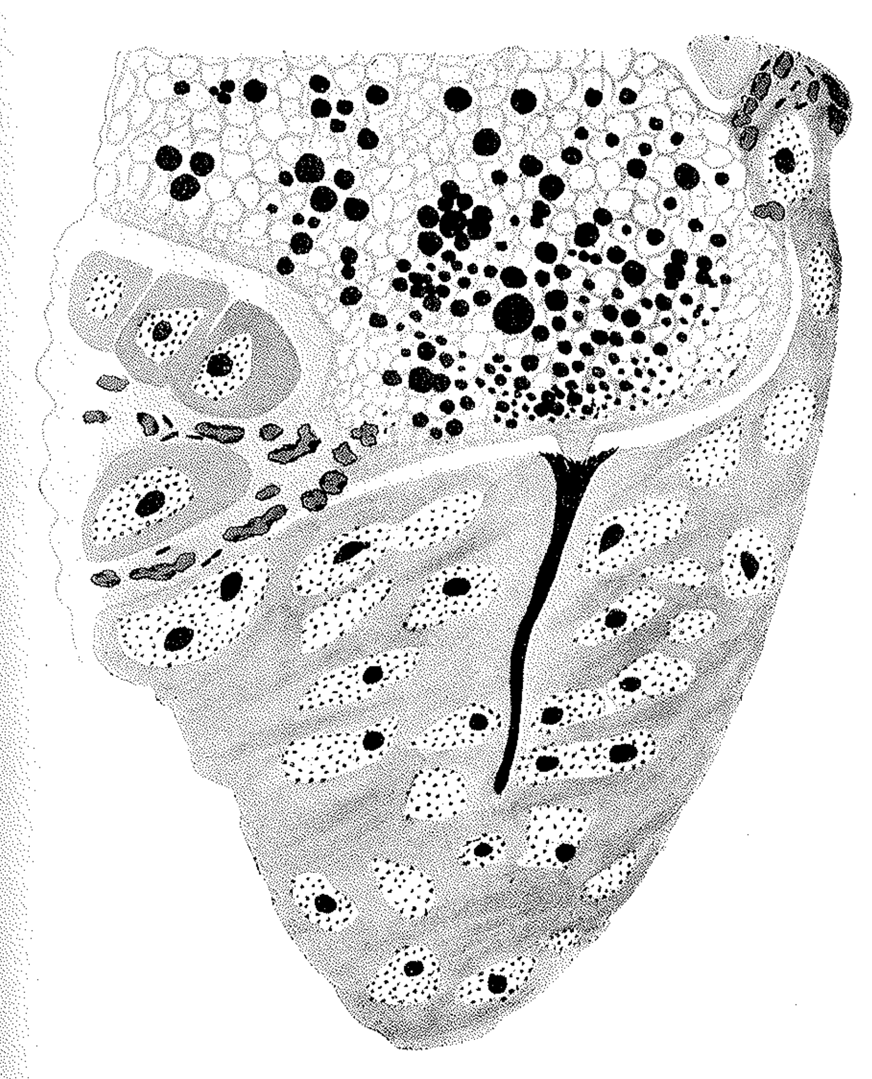


Fig. 275. — Infection de l'œuf d'hiver de **Drep. platanoïdes** : stade de début.

plus ou moins allongés mais plus globuleux cependant que ceux qu'on rencontre dans les œufs ou dans les jeunes larves des fondatrices. Nous

verrons quelles conclusions on peut tirer de ces constatations. En dehors des symbiotes ordinaires, on constate la présence de Bactéries disséminées dans la masse symbiotique.

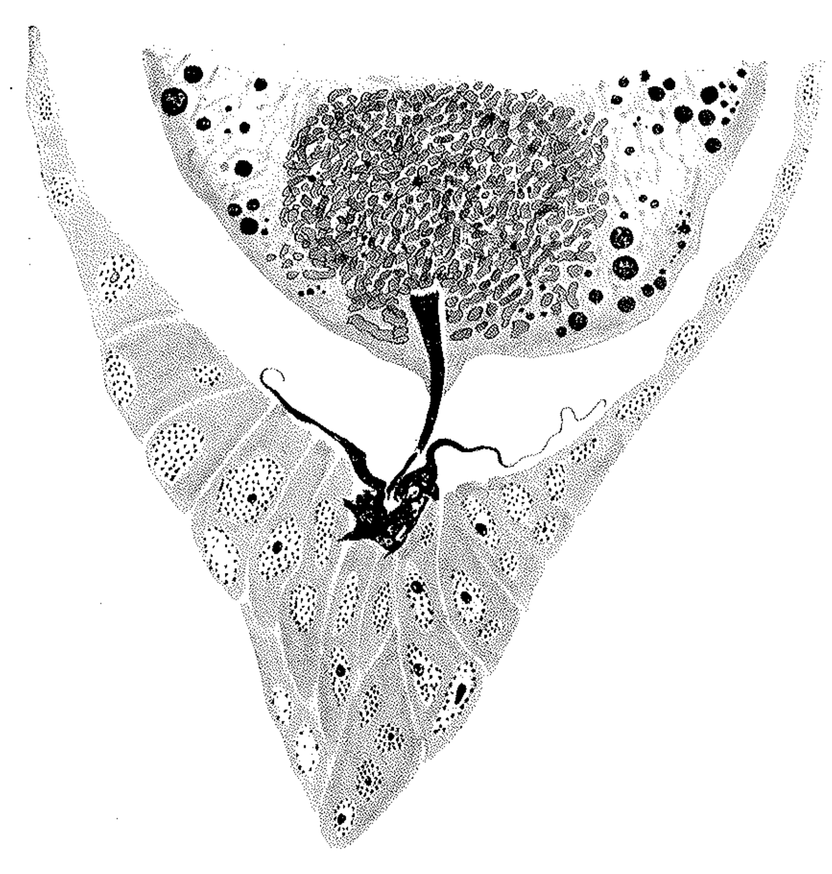


Fig. 276. — Pôle postérieur de l'œuf d'hiver de **D. platanoides** avec masse symbiotique définitivement constituée et pédoncule postérieur en voie de disparition. Fixation au Helly; coloration à l'hématoxyline.

Lorsque l'infection de l'œuf est terminée, le pédoncule postérieur apparaît coloré en noir par l'hématoxyline sur toute sa longueur ; son point d'attache est reporté assez haut dans l'intérieur de l'œuf (Fig. 276) ; par contre, la portion folliculaire est très raccourcie ; en outre, cette base apparaît noyée dans une masse sidérophile envacuolée près de la surface de la cloison folliculaire ; cette masse est vraisemblable-



ment constituée par la partie détruite de la tige pédonculaire. A un stade plus avancé, toute trace de pédoncule disparaît. La signification précise de ce pédoncule, qui n'a pas été observé jusqu'ici chez d'autres espèces de Pucerons, est encore énigmatique. Il n'apparaît pas que

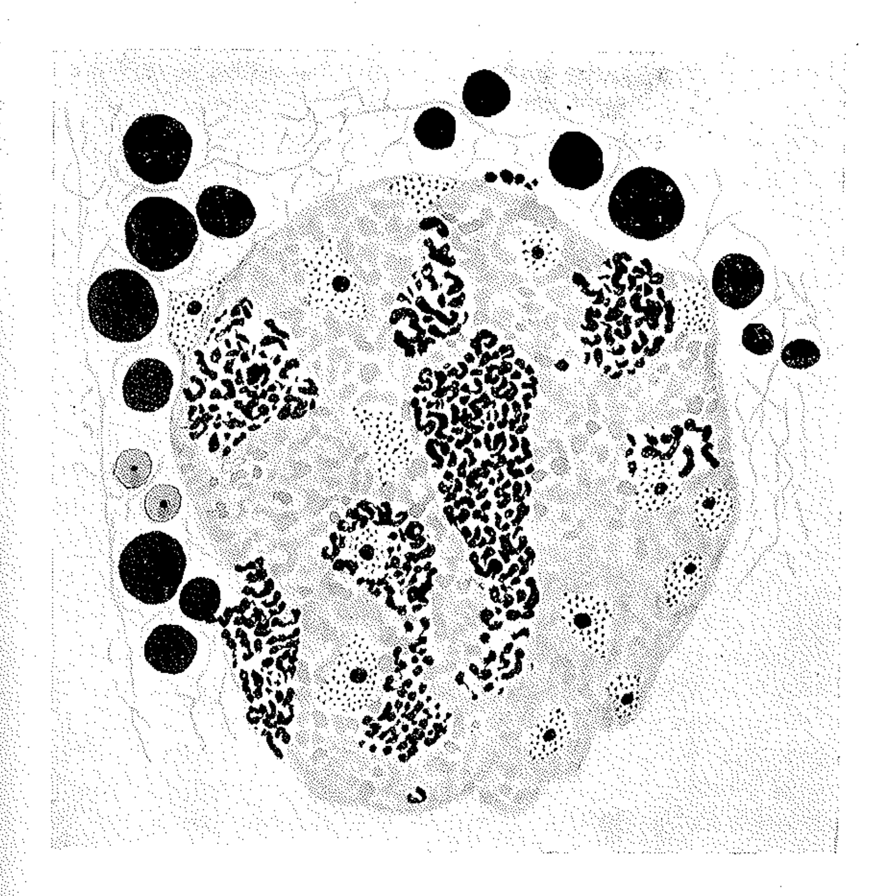


Fig. 277. — Formation du mycétome embryonnaire dans l'œuf d'hiver de **D. platanoides.**

sa formation soit en connexion avec le ligament nutritif antérieur dont la résorption est complète avant l'apparition du pédoncule.

Les premières phases du développement embryonnaire dans l'œuf d'hiver ont été bien mises en évidence par Tannreuther d'abord, puis par Webster et Phillips ; nous avons vu que ces auteurs n'étaient pas

d'accord sur l'origine des mycétoblastes. Si l'on examine des coupes en série d'œuf de **Drep. platanoïdes** au début de l'évolution embryogénique (Fig. 277), on constate que la masse symbiotique est infiltrée

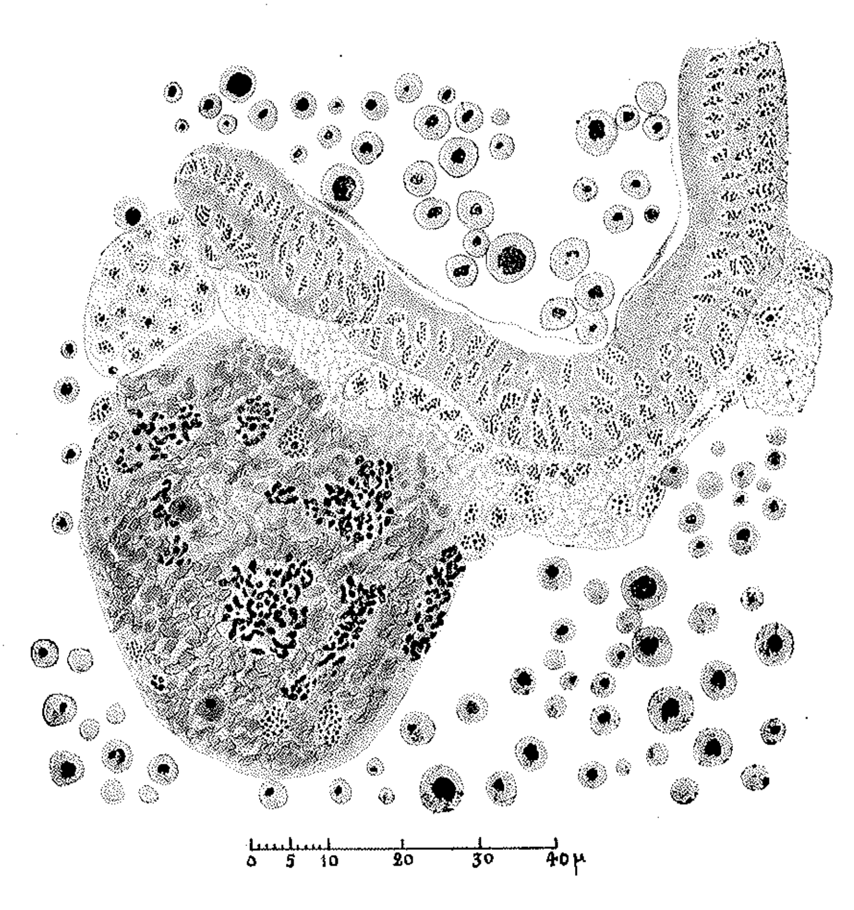



Fig. 278. — Germe en voie de développement dans l'œuf d'hiver de **D. patanoïdes** récemment pondu.

de cellules ne possédant pas encore les caractères des mycétocytes ; ces éléments proviennent du vitellus et non de la couche mésodermique qui se différencie sur l'une des faces de la bande germinale ; une de ces cellules est représentée au moment où elle va pénétrer à l'intérieur de la masse symbiotique.



On distingue nettement à l'intérieur de cette masse (Fig. 277 et 278) les symbiotes ordinaires de forme très irrégulière et faiblement colorés, des Bacilles et formes de passage teintés en noir par l'hématoxyline. Bacilles et formes de passage constituent de véritables nids au milieu de la masse des symbiotes. La transformation des Bacilles en symbiotes ordinaires prend ici une importance considérable : on assiste

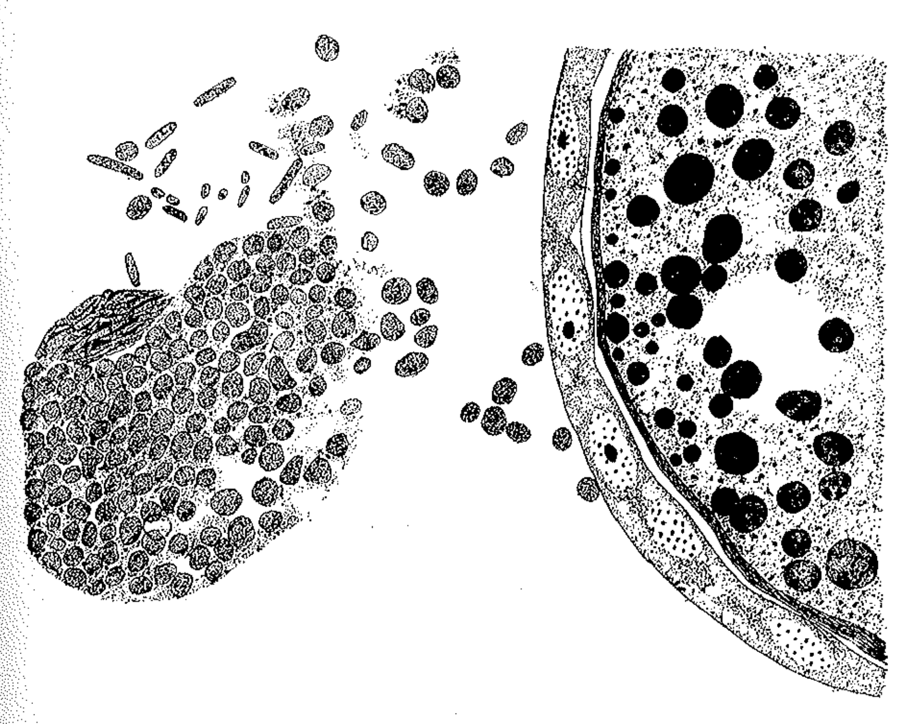


Fig. 279. — **Pt. juglandicola.** Désagrégation du mycétome maternel dans le voisinage de l'œuf chez une femelle ovipare.

à une véritable régénération de ces symbiotes à partir des formes bactériennes originelles. On a même l'impression que les nouvelles formes remplacent intégralement les anciennes. Ces constatations, très importantes pour la thèse que je défends, ont échappé jusqu'ici aux investigations des auteurs qui ont étudié le **Drepanosiphum.**

Chez **Pterocallis juglandicola,** les processus d'infection de l'œuf chez les femelles ovipares présentent les plus grandes analogies avec

ceux qui se déroulent chez le Drepanosiphum. Si l'on examine des coupes en série de femelle adulte après fixation au Helly et coloration par l'hématoxyline, on constate tout d'abord une sorte de désagrégation des mycétocytes placés au voisinage des œufs mûrs (Fig. 279) ; symbiotes ordinaires et Bacilles symbiotiques sont partiellement mis en liberté et attirés vers la région postérieure de l'œuf qui joue ainsi le rôle de pôle d'attraction vis à vis des microorganismes symbiotiques. Ceux-ci s'accumulent en une masse dense (masse polaire). Chez la plupart des espèces d'Aphides, la masse polaire est colorée en vert, elle est nettement visible par transparence aussitôt après la ponte, lorsque le chorion est encore clair et transparent.

## CONCLUSIONS GÉNÉRALES SUR LA SYMBIOSE CHEZ LES APHIDES

On admet généralement que les microorganismes qui vivent normalement dans la cavité générale des Aphides jouent un rôle utile dans le métabolisme de l'hôte et qu'ils retirent eux-mêmes un bénéfice certain de la vie en commun. Cette opinion repose essentiellement sur le fait que tous les Pucerons, sans exception, hébergent des microorganismes et que le mécanisme de cette infection obligatoire est toujours le même pour une même espèce. Les deux êtres se seraient donc associés en vue d'une vie commune favorable à chacun des conjoints. C'est la définition même de la symbiose d'après Hertwig : « vie en commun, d'une façon permanente, d'organismes spécifiquement distincts et ayant des fonctions et des besoins vitaux complémentaires ». En fait, chez les Aphides, on n'a jamais pu démontrer que l'Insecte retire un bénéfice de la présence de microorganismes. Comme le dit très justement Caullery, « la délimitation de la symbiose et du commensalisme, ou même du parasitisme n'est pas aisée. On y a fait rentrer souvent des associations comme celles d'**Eupagurus prideauxi** et **Adamsia palliata** ; d'autres fois, on groupe les associations de ce genre sous le nom de mutualisme en restreignant la symbiose aux cas où l'union des deux organismes est particulièrement intime. L'analyse des exemples de symbiose ainsi comprise montrera qu'elle n'est pas toujours purement mutualiste et que l'un des deux organismes est, en réalité, plus ou moins parasite de l'autre ». Les constatations que j'ai faites chez un certain nombre d'Aphides, en particulier chez les espèces hébergeant à la fois des formes bactériennes et des formes symbiotiques normales, m'ont amené à rapprocher les processus symbiotiques des processus infectieux ordinaires. D'après cette conception nouvelle, la symbiose chez les Aphides ne serait qu'un cas particulier d'immunité antimicrobienne naturelle. On peut objecter que l'immunité, contrairement à ce qu'on observe généralement, n'est jamais complète et qu'elle laisse toujours subsister des microorganismes vivants. En fait, elle aboutit à un état d'équilibre stable mais qui peut être rompu dans certains cas comme je l'ai montré en étudiant le mécanisme de la symbiose chez **A. mali, A. pyraria, A. forbesi, Chait. lyropictus, A. atriplicis.**

On peut concevoir la symbiose, à l'origine, comme une infection bactérienne au sens pathologique du mot. La lente adaptation de ces Bactéries à un même organisme a progressivement diminué leur virulence jusqu'à les rendre complètement inoffensifs pour l'hôte.

SEPTIÈME PARTIE

# CONSIDÉRATIONS ÉCONOMIQUES SUR LE RÔLE DE LA PATHOLOGIE INFECTIEUSE DES INSECTES

CHAPITRE XXI

# Utilisation des microorganismes entomophytes en agriculture.

Article 1

## CHAMPIGNONS

Le Champignon découvert par METCHNIKOFF sur les larves du Hanneton du blé (**Anisoplia austriaca**), puis sur larves de **Cleonus punctiventris,** a été utilisé par lui pour la destruction de ces parasites. Le Champignon était obtenu en culture pure sur coton imbibé de bière de maïs. METCHNIKOFF est le premier auteur qui ait réussi à réaliser d'une manière pratique la production artificielle des Champignons entomophytes.

KRASSILSTSCHICK reprenant les travaux de ce savant, a cherché à produire industriellement la Muscardine verte ; dans ce but, il créa en 1884, à Smela, une petite usine qui fonctionna pendant 4 mois et produisit 55 kgs de spores absolument pures. En ce qui concerne le mode d'emploi, KRASSILSTSCHICK estime qu'il convient de les répandre dans les champs, mélangées à l'engrais ou à du sable. Au cours d'essais effectués dans le gouvernement de Kieff, il a obtenu, sur de petites surfaces, des destructions épidémiques qui frappaient, au bout de 10 à 15 jours, de 55 à 80 % des Insectes. Malheureusement, les essais n'ont pu être

poursuivis en grand ; dans une lettre à GIARD, l'auteur donne la raison suivante qui ne laisse pas de nous rendre sceptiques sur la valeur pratique du nouveau procédé de lutte imaginé par les deux savants russes : « Mais voilà que tout à coup, une crise vient d'éclater sur notre production de sucre provoquée par une surproduction de betteraves. Dans ces conditions et vu la disposition des esprits, aucune raison ne se présentait de déclarer la guerre au Cléonus. »

Les travaux de METCHNIKOFF et de KRASSILSTSCHICK ne pouvaient cependant pas manquer d'attirer l'attention des savants des autres pays. Ch. BRONGNIART, qui avait déjà eu l'occasion de signaler et d'étudier plusieurs épidémies meurtrières causées par les Entomophthorées, recommandait de « semer ces entomophytes sur des Insectes communs et qu'on peut se procurer sans aucun frais, sur les larves de Mouches, sur de vulgaires asticots : ceux tués par le cryptogame seraient séchés, pulvérisés et serviraient à couvrir les champs aussi facilement qu'on les ensemence. Les spores durables ainsi répandues par milliers pourraient détruire les Insectes redoutables pour les agriculteurs. Et ce n'est pas une simple hypothèse, ajoute-t-il, car BREFELD a prouvé qu'il suffit d'arroser la chenille de Piéride du chou avec de l'eau dans laquelle on a dilué des spores de l'**Entomophthora sphœrosperma** pour infecter ces chenilles ».

L'étude des Champignons parasites du Criquet pélerin a fourni la matière de plusieurs notes intéressantes mais contradictoires. Alors que d'après KUNCKEL D'HERCULAIS et LANGLOIS les Champignons ne jouent qu'un rôle secondaire dans la destruction naturelle des Criquets, d'après BRONGNIART, leur rôle est très important. Les notes de ces auteurs ont été l'occasion d'articles de vulgarisation dityrambiques sur l'emploi des Champignons dans la lutte contre les Insectes nuisibles. GIARD s'est élevé avec force contre ces dangereux vulgarisateurs : « Il serait peu scientifique, dit-il, il serait même dangereux au point de vue de la science pure et de ses applications aux questions agronomiques d'entretenir l'enthousiasme que certains vulgarisateurs ont cherché à provoquer. Ce serait discréditer à plaisir une méthode qui, appliquée avec plus de discernement et en s'appuyant sur des recherches plus sérieuses, pourra donner, dans certains cas, des résultats excellents ».

En Amérique, quelques essais d'infection artificielle ont été tentés par HOWARD en 1900 et 1901 avec un Champignon provenant de Criquets malades d'Afrique du Sud. Dès 1896, Arnold COOPER signalait



que, dans cette dernière contrée, les Criquets mouraient en grand nombre d'une maladie contagieuse causée par un Champignon identifié avec **Empusa grylli** ; cependant les cultures du parasite des Criquets ne furent pas reconnues comme étant celles d'**E. grylli** par MASSEE du « **Royal botanic gardens** et par le **Government vegetable pathologist** de Victoria (Australie). Ces deux auteurs identifièrent le Champignon des tubes de culture avec un **Mucor** que l'on trouve habituellement sur végétaux malades ou morts ou sur cadavres d'animaux. Il est possible que le parasite observé par A. COOPER dans l'Afrique du Sud soit effectivement une Empusée, mais que le Champignon des cultures distribuées aux agriculteurs ne soit pas autre chose qu'un **Mucor** saprophyte.

FRENCH à Victoria et MASSEE à Kew (Angleterre) auraient obtenu, d'après HOWARD, de très bons résultats avec les cultures du **Mucor** ; cependant en 1900, l'entomologiste du Département de l'Agriculture de Cape Town, LOUNSBURY, écrivait, en conclusion d'un rapport, que la question des Criquets méritait de retenir toute l'attention du Parlement, mais qu'il n'était nullement prouvé que la maladie cryptogamique des Insectes dût être considérée comme un moyen suffisant pour enrayer leur extension.

Les expériences de HOWARD avec le Champignon provenant de l'Afrique du Sud n'ont donné que des résultats médiocres ; la distribution artificielle des spores ne réaliserait donc pas les belles espérances conçues jadis ; l'extension de la maladie naturelle ou artificiellement provoquée dépendrait principalement des conditions atmosphériques. L'opinion de HOWARD est d'ailleurs pleinement confirmée par les observations de Lawrence BRUNER dans plusieurs Etats de l'Est.

L'histoire de la muscardine parasite du ver blanc est encore plus riche en enseignements de toutes sortes que celle des parasites du Criquet. Cette muscardine a été identifiée avec **Isaria** (= **Beauveria**) **densa** par GIARD qui en a fait l'étude complète en 1893. Le mémoire de GIARD est certainement l'un des monuments les plus riches et les plus précieux de l'histoire des Champignons entomophytes. Au milieu des confusions et des contradictions sans nombre dont cette histoire est remplie, le travail du savant français jette une vive lumière sur l'importante question de l'utilisation pratique des auxiliaires entomophytes.

C'est en 1890 que LE MOULT, alors président du syndicat de hannetonage de Gorron, signalait à GIARD la présence d'un Champignon parasite sur un certain nombre de vers blancs recueillis à Céaucé (Orne).

Ce Champignon avait déjà été observé sur Hannetons adultes dès le début du siècle dernier. NEES von ESENBECK le signalait sur Insectes morts et sur feuilles et branches pourrissantes ; d'autres auteurs, sur Scarabées, sur larves et chrysalides de Diptères, sur Guêpes, etc. Il est à peu près certain que c'est lui-même que REISET a observé sur les vers blancs en Normandie en 1867 et DE BARY et BAIL, sur Hannetons adultes en Prusse. GIARD l'a reconnu virulent pour les larves de **Tenebrio molitor**, celles d'**Anomala frischii** et de **Polyphylla fullo**, les chenilles de **Sphinx atropos** et de **Sph. ligustri**, celles de diverses Noctuelles, le Ver à soie, etc... Les expériences tentées sur des Orthoptères exotiques ou indigènes n'ont donné que des résultats négatifs. Avec le ver blanc, par contre, les résultats furent excellents. L'expérience a montré que les larves les plus avancées sont celles qui s'infectent le plus facilement.

Parmi les principaux modes d'emploi du **Beauveria densa** en grande culture, GIARD mentionne d'abord le procédé GAILLOT qui consiste à profiter du travail des semailles et à employer les graines comme véhicules des spores ; à défaut de graines, on peut employer une substance inerte (terre fine ou sable) pouvant être stérilisée facilement. Un autre procédé plus efficace et plus économique consisterait à recueillir les momies au moment où elles sont au maximum de sporulation et à les transporter dans les champs ravagés par les vers blancs. PRILLIEUX et DELACROIX recommandent l'emploi de terrines renfermant environ 1 centimètre de terre imbibée d'eau et recouvertes de planches sur lesquelles on place de la mousse mouillée. Des vers sains saupoudrés de spores et placés dans les terrines s'infestent au bout de quelques heures ; ils sont remis ensuite en liberté dans le champ où on veut créer une épidémie. Enfin un autre procédé proposé par LE MOULT consiste à faire des cultures sur pomme de terre, à débiter le substratum en petits cubes qui sont enterrés ensuite.

Quels ont été les résultats des expériences d'infection ? Quelques-uns furent excellents, mais beaucoup d'autres se montrèrent très insuffisants ; ce qui est certain, d'après GIARD, c'est que « dans certaines conditions, tout au moins, l'emploi de l'**Isaria densa** a donné des résultats très favorables et très encourageants ».

Cependant DUFOUR, en Suisse, qui a fait quelques essais d'infection en pot et plusieurs expériences en pleine terre, avoue n'avoir jamais réussi à créer d'épidémie et conclut à l'inefficacité du procédé ;



mais il convient toutefois qu'il y a peut-être lieu de renouveler les essais et d'examiner plus à fond la question.

Depuis GIARD et DUFOUR, la question de l'emploi en grand des spores de **B. densa** n'a pas fait beaucoup de progrès et aujourd'hui, comme autrefois, l'expérience n'a pu établir définitivement si la dispersion artificielle des spores constitue un moyen vraiment efficace et recommandable de lutte contre le ver blanc.

Les expériences de contamination artificielle du Puceron lanigère que j'ai faites à Beaune en 1913 avec Champignons de culture envoyés par LE MOULT et suivant la méthode préconisée par cet auteur ne m'ont donné aucun résultat positif contre les Pucerons des racines.

En Amérique, des expériences intéressantes ont été faites sur le « Chinch bug » (**Blissus leucopterus**) avec **Beauveria globulifera.** BILLINGS et GLENN en 1911, ont résumé dans une étude complète les travaux effectués jusqu'à ce jour par les divers auteurs américains qui ont étudié la question de la lutte contre le Ching bug par la méthode biologique. Malgré des résultats favorables enregistrés par certains auteurs, BILLINGS et GLENN concluent à l'insuffisance des procédés basés uniquement sur l'utilisation du **Beauveria** comme auxiliaire ; d'après eux, toute épidémie causée par ce Champignon est sous la dépendance des agents extérieurs et l'Homme ne peut qu'assister en spectateur à ce conflit d'êtres vivants.

Le même Champignon a donné lieu en Algérie à des essais intéressants de lutte contre l'Altise de la vigne. Il a été introduit par TRABUT en 1892 (cultures Giard). Dispersé, notamment à Tlemcen, il aurait provoqué la création de plusieurs foyers épidémiques ; sans affirmer d'une manière absolue l'efficacité de cette méthode de lutte, l'auteur la juge digne cependant d'essais en grand. Depuis la publication de son premier rapport en 1898, il a été beaucoup plus affirmatif et a signalé l'existence de nombreux foyers épidémiques causés par le **Beauveria** introduit en 1892. On peut se demander si l'introduction de ce parasite date réellement de cette année ; il est permis d'en douter.

En 1903, VANEY et CONTE procédèrent à des essais de contamination des larves d'Altise au moyen de spores de **B. bassiana** ; de leurs expériences, il résulte :

« 1° Que le **B. bassiana** recueilli sur des Vers à soie et répandu sur des feuilles de vigne amène en très peu de temps la mort des larves d'Altise qui se nourrissent de ces feuilles ;

« 2° Que l'infection résulte de l'absorption des spores qui germent dans le tube digestif et envahissent graduellement tous les organes ;

« 3° Que la destruction des larves par ce procédé peut être considérée comme totale. »

Malgré de si remarquables résultats, l'emploi des spores de **B. bassiana** comme moyen de lutte contre l'Altise n'a pas été généralisé.

En 1912, des expériences d'infestation artificielle ont été faites par PICARD sur les chenilles de la Teigne des pommes de terre (**Phthorimea operculella**) en utilisant les spores de **B. globulifera, B. densa, B. bassiana, Spicaria farinosa, Isaria destructor** (= **Penicillium anisopliæ**). Après avoir été saupoudrées de spores, les chenilles furent enfermées en tube ; au bout de quelques jours, toutes mouraient contaminées, à l'exception toutefois des larves saupoudrées avec spores de **P. anisopliæ.** Selon PICARD et contrairement aux affirmations de VANEY et CONTE, « il est à peu près certain que la contamination des Insectes se produit par la pénétration à travers le tégument et non par ingestion des conidies. D'ailleurs PORTIER, ajoute l'auteur, a montré que les Champignons, qui se rencontrent normalement dans le tube digestif de certaines chenilles sans produire aucun trouble, deviennent virulents lorsque leurs conidies obtenues par culture sont mises en contact avec la peau. » L'expérimentation en grand est loin d'avoir donné d'aussi bons résultats que l'infestation en tubes. « Ils sont cependant encourageants, dit PICARD, et permettent d'espérer que de nouvelles recherches feront trouver un procédé d'infection plus radical ».

En 1912, deux auteurs américains, SPEARE et COLLEY, ont publié un important travail sur l'emploi d'un Champignon parasite d'**Euproctis chrysorrhœa** dans la lutte contre ce ravageur ; le Champignon rapporté d'Europe par THAXTER en 1888 a été identifié avec **Entomophthora aulicæ.** La méthode employée par SPEARE et COLLEY consiste à infecter un certain nombre de chenilles puis à les placer dans de petits sacs de papier au voisinage des nids de chenilles. Les expériences commencées en 1908 ont été poursuivies en 1910 et 1911 ; les conclusions auxquelles sont parvenus les deux auteurs peuvent se résumer ainsi : la propagation artificielle du Champignon d'**E. chrysorrhœa** est certainement un moyen efficace de destruction des chenilles sur des étendues considérables de territoire. Le succès de l'opération dépend des degrés de température et d'humidité ; on peut toutefois compter sur une mortalité moyenne de 60 %. L'infection doit être pratiquée, de préférence, dans les localités où la maladie naturelle n'est pas connue, au printemps du 1er mai au 1er juin et en automne du 25 août au 10 septembre.



On peut remarquer que la méthode préconisée par SPEARE et COLLEY est assez différente de celles étudiées jusqu'ici : en effet les deux auteurs n'ont nullement recours aux cultures sur milieu artificiel pour obtenir en grand les spores du Champignon parasite des chenilles ; ils infectent un certain nombre de chenilles saines et les dispersent dans les parties les plus ravagées des forêts, constituant de la sorte des foyers artificiels de dissémination. Cette méthode a déjà été employée par PRILLIEUX et DELACROIX ; c'est la seule qui convienne pour les Entomophthorées dont la culture sur milieu artificiel offre des difficultés beaucoup plus grandes que celle des Mucédinées. Nous avons vu que cette culture avait été réalisée par HESSE dans le cas d'**Empusa muscæ** et que cet auteur avait réussi à infecter artificiellement, par ingestion de spores de culture, non seulement des adultes, mais également des larves. Il ne semble pas cependant que cette méthode de lutte contre les Diptères ait été appliquée avec beaucoup de succès dans la pratique. Les Entomophthorées sont cependant des auxiliaires très précieux et qui déterminent des épidémies très meurtrières chez les Insectes. OLIVE, en 1906, a fait un certain nombre d'expériences d'infection artificielle en utilisant diverses Entomophthorées, en particulier **Empusa sciaræ.** Les larves de **Sciara** vivent communément dans le crottin, le plus souvent en compagnie de trois autres espèces de Mouches appartenant au genre **Psychoda** ; mais ces dernières espèces ne sont jamais parasitées par le Champignon des **Sciara,** ce qui démontre bien la très grande spécificité parasitaire des Entomophthorées. OLIVE n'a jamais pu obtenir l'infection des adultes par cohabitation avec les Insectes contaminés ; par contre, l'infection réussit avec les larves jeunes, mais il faut avoir soin de maintenir humide le milieu dans lequel elles vivent ; si ce milieu reste sec, les larves peuvent donner l'Insecte parfait qui meurt cependant en état d'infection, mais après avoir pondu.

Aux conclusions très optimistes de SPEARE et COLLEY sur l'emploi d'**Entomophthora aulicæ,** on peut opposer celles de MORRILL et BACK, beaucoup moins encourageantes, sur l'utilisation comme auxiliaires des Champignons parasites d'Aleurodes en Floride. D'après ces auteurs, il serait généralement inutile de pulvériser sur les arbres infestés d'Aleurodes, des émulsions plus ou moins concentrées de spores de Champignons parasites ; rarement en effet, l'infection résultant directement du

traitement dépasse 1 % ; le plus souvent même, elle est inappréciable. Les Champignons jouent cependant un rôle important comme facteurs d'équilibre. Parmi les plus répandus on peut citer : **Aschersonia aleyrodis, A. flavo-citrina** et **Aegerita weberi.** Mais si l'on compare ce rôle joué par les Champignons à celui des autres causes de mortalité, il apparaît beaucoup moins important; malheureusement, ces dernières causes sont encore très mal connues ; pour ne rien préjuger de leur nature, MORRILL et BACK qualifient d' « **unexplained mortality** » la mortalité qui résulte de leur action. Ils ont pu établir que, une année sur trois environ, la grande majorité des Aleurodes succombent sous l'action commune des différents facteurs de destruction ; on est tenté d'attribuer aux seules causes tangibles, c'est-à-dire aux Champignons, le rôle principal, mais en réalité, ce sont surtout les facteurs inconnus qui interviennent. Augmenter la quantité des germes fongiques par pulvérisation d'émulsion de spores ou chercher à créer des conditions plus favorables au développement des Champignons, par exemple en rendant le milieu plus humide au moyen de pulvérisation préalable d'eau ordinaire, constitueraient, d'après les auteurs, des opérations sans utilité.

Un grand nombre d'expériences ont été faites par eux en Floride et des milliers d'arbres furent traités : jamais les résultats n'infirmèrent cette opinion et il devint évident que dans la majorité des cas la pulvérisation d'insecticides était préférable à celle d'émulsions de spores. Au cours de leurs nombreuses expériences, MORRILL et BACK ont fait un certain nombre de remarques intéressantes : ils ont d'abord montré que le cuivre des appareils à pulvériser n'avait pas d'influence sur la vitalité des spores ; puis que l'addition de matières nutritives, de glucose par exemple, aux émulsions de spores, ne favorisait ordinairement pas la germination de ces dernières ; qu'enfin la répétition des traitements n'augmentait pas de manière très sensible la mortalité générale des Insectes.

C'est contre la Cochylis et l'Eudémis de la vigne que la méthode de lutte par multiplication artificielle des germes de Champignons parasites a donné lieu aux expériences les plus nombreuses et les plus intéressantes. Dès 1893, SAUVAGEAU et PERRAUD expérimentaient en plein vignoble l'action de **Spicaria farinosa** var. **verticilloïdes,** parasite très commun des chrysalides en hiver. Après pulvérisation sur les grappes d'une émulsion de spores de culture dans de l'eau ordinaire, les auteurs ont constaté que le tiers ou la moitié des chenilles étaient momifiées dix jours après le traitement. Malgré ces résultats très encourageants, les expériences n'ont pas été poursuivies.



SCHWANGART a repris en 1907 cette question de l'emploi des Champignons dans la lutte contre les vers de la grappe. Ayant remarqué que ces parasites occasionnent peu de dégâts en Franconie où l'on a l'habitude d'enterrer les ceps en hiver, il commença une série d'expériences de buttage en novembre 1908. Au printemps, les chrysalides ayant passé l'hiver sous terre étaient en très grande majorité envahies par la moisissure blanche. Des expériences étendues ont été faites à Deidesheim ; la moyenne des résultats enregistrés dans le Palatinat est évaluée par SCHWANGART à 85-90 %. Evidemment, dans les vignobles où le buttage automnal est possible, c'est-à-dire là où les ceps sont bas, le procédé est des plus recommandables. On peut même le perfectionner en employant la méthode proposée par JABLONOWSKY, c'est-à-dire butter avant la vendange et placer au milieu du cep un échalas muni d'un abri-piège, par exemple d'un anneau de papier gaufré. En buttant le vieux bois, on crée un milieu éminemment favorable au développement du Spicaria dont les spores sont partout répandues en suffisante abondance ; mais on ne peut songer à faire application partout d'un tel procédé ; dans quelques vignobles, en effet, le vieux bois atteint un trop grand développement ou les ceps sont plantés à une distance trop faible les uns des autres pour qu'il soit possible de recouvrir de terre tout le vieux bois. Dans une étude assez récente et fort complète, entièrement consacrée au **Spicaria farinosa,** VOUKASSOVITCH a confirmé qu'en Yougoslavie, où le buttage des ceps en hiver est pratiqué dans certaines régions, les invasions de Cochylis et d'Eudémis sont à peu près inconnues.

Les expériences de SCHWANGART méritent de retenir l'attention : en effet, le savant allemand ne se propose nullement de créer des épidémies artificielles en multipliant les germes d'infection, mais il cherche à réaliser les meilleures conditions de développement pour un parasite dont les germes sont répandus partout en créant, autour des chrysalides, une atmosphère d'humidité favorable au développement du Champignon et nuisible à celui de l'Insecte. En 1911, j'ai répété sur une petite échelle l'expérience de SCHWANGART : toutes les chrysalides des ceps buttés avant l'hiver étaient recouvertes au printemps de la moisissure blanche caractéristique, mais sur les témoins eux-mêmes, la proportion des chrysalides parasitées était très élevée, de sorte que l'expérience resta beaucoup moins concluante que celle de Deidesheim.

Contre les chenilles de première et deuxième générations, il a été procédé en France à un certain nombre d'applications en grand de contamination artificielle au moyen de spores de culture. Les résultats obtenus par les divers expérimentateurs n'ont pas été encourageants. Contrairement à SAUVAGEAU et PERRAUD, je n'ai obtenu aucun résultat positif en pulvérisant les grappes avec émulsion de spores de culture de première génération. De même, l'emploi de bande-pièges en toile largement infestées de spores n'a pas accru sensiblement la mortalité causée en hiver par le développement du Champignon. On peut donc considérer qu'en l'état actuel de nos connaissances, la méthode de lutte contre les vers de la grappe par multiplication artificielle des spores de **Spicaria** ne peut être conseillée.

En résumé, l'utilisation en agriculture des Champignons entomophytes ne semble pas être en bonne voie de réalisation pratique. A côté de résultats très encourageants obtenus par certains expérimentateurs, combien d'échecs partiels ou complets enregistrés jusqu'ici ! Est-ce à dire que les premiers se sont trompés ? Nous n'irons pas jusque-là, mais il serait bon de savoir quelles ont été la part de l'Homme et celle des agents extérieurs dans la propagation des épidémies artificiellement provoquées. On peut objecter aussi à quelques uns de ces expérimentateurs que leur opinion, basée sur les rapports de cultivateurs ou d'agents locaux mal préparés à ce genre de travail, est, de ce fait, plus ou moins sujette à caution. Déjà MORRILL et BACK avaient constaté maintes fois que beaucoup de ces rapports populaires étaient fortement exagérés; même quelques-uns d'entre eux ont été reconnus complètement erronés. Dans ces conditions, on ne peut accepter sans réserves les conclusions d'auteurs trop optimistes.

En fait, il semble bien que la création d'épidémies soi-disant artificielles est moins le fait d'une dispersion intense des germes pathogènes que celui d'un heureux concours de facteurs indispensables à leur développement.

Comme le disait très justement DUFOUR il y a déjà plus de quarante ans, « la difficulté n'est pas de trouver des Champignons qui anéantissent les Insectes ; en effet, on connaît déjà près de deux cents espèces de Cryptogames qui vivent en parasites sur des animaux de toutes classes et on peut prévoir que de nouvelles découvertes seront faites dans ce domaine maintenant que l'attention a été attirée d'une façon toute spéciale sur cette catégorie de Champignons. Donc les Champignons existent.



Infecter artificiellement avec eux des vers blancs ou d'autres Insectes recueillis dans ce but et placés dans une terrine ou dans un récipient quelconque, cela peut se faire assez rapidement. Mais c'est là une simple expérience de laboratoire.

Le « véritable problème est de déterminer à volonté, chez des Insectes, une **véritable épidémie** qui se transmette, qui se répande d'**elle-même** et cela assez rapidement pour que les ennemis de nos cultures soient frappés de mort avant d'avoir pu faire leurs dégâts ».

Ce problème reste toujours posé et la solution paraît tout aussi éloignée qu'à l'époque où vivait DUFOUR.

Article 3

## BACTÉRIES

Depuis longtemps, on envisage l'emploi des Bactéries dans la lutte contre les Insectes nuisibles et cependant les expériences relatives à ce mode de lutte sont restreintes. Alors que les tentatives de création d'épidémies artificielles par multiplication des germes de Champignons entomophytes se multipliaient en France comme à l'étranger, les essais d'infection par Bactéries n'étaient pas encore sortis du domaine du laboratoire. Ce n'est qu'en 1912 qu'on parla pour la première fois de résultats positifs obtenus dans la nature par multiplication artificielle de Bactéries entomophytes. Ces résultats furent obtenus par D'HÉRELLE avec le **Coccobacillus acridiorum** isolé au cours d'épidémies naturelles décimant les Criquets au Mexique.

Dans un mémoire important qui résume ses expériences les plus importantes, D'HÉRELLE donne toutes les indications utiles sur la manière de procéder dans la pratique pour créer artificiellement des épidémies susceptibles de se propager sans intervention de l'Homme. Le virus destiné aux pulvérisations doit avoir une virulence telle qu'il soit capable de tuer en 8 heures, au maximum, des Criquets par inoculation dans la cavité générale ; ce maximum de virulence est généralement obtenu à la suite d'un petit nombre de passages, douze au maximum ; cependant, lorsqu'on veut infecter une espèce différente de celle d'où provient le Coccobacille, il paraît nécessaire de faire un grand nombre de

passages : ainsi Et. SERGENT en Algérie a dû pratiquer cinquante-deux passages par **Stauronotus maroccanus** pour arriver à tuer en huit heures ces Insectes avec le Coccobacille isolé par D'HÉRELLE dans le Yucatan ; par contre, à Chypre, douze passages ont suffi à M. W. FRANCIS pour obtenir le même degré de virulence contre la même espèce de Criquet. De semblables divergences ne s'expliqueraient guère si l'on ne savait, d'après les faits que j'ai exposés précédemment, que la virulence est caractérisée, chez les Insectes, par une très grande instabilité (voir les graphiques).

Des différentes conditions à réaliser pour obtenir le maximum de résultats dans la pratique, je ne dirai rien, n'ayant pas fait moi-même d'expérience d'infection avec le Coccobacille des Criquets ; mais il est permis de critiquer les conditions dans lesquelles les expériences de l'auteur ont été faites et les conclusions qui ont été tirées des résultats obtenus.

« Toute bande infectée, écrit D'HÉRELLE, est condamnée à disparaître ». Lorsqu'il s'agit des **Schistocerca** (espèce où l'acridiophagie est particulièrement développée), « si les conditions sont les plus favorables, une bande de Criquets peut être détruite en huit jours » comme l'auteur a pu le constater lui-même dans la province de La Rogia en avril 1912. Mais il avoue ensuite que « le virus n'est pas un poison foudroyant, mais l'objectif doit être d'arriver en 2, 3 ou 4 ans à réduire tellement le nombre des Sauterelles que ces Insectes cessent d'être un fléau ». Si le virus n'est pas un poison foudroyant, comment expliquer qu'une bande de Criquets, qui comprend des millions d'individus, puisse être complètement détruite en huit jours ou même en cinq ou six jours « comme cela arrive parfois » ?

L'objectif indiqué par D'HÉRELLE paraît d'ailleurs quelque peu utopique : si la propagation naturelle de l'épidémie artificiellement créée est assez rapide et étendue pour enlever en peu d'années, aux invasions de Criquets, le caractère de fléau, l'intervention de l'Homme, l'épidémie étant déclenchée, ne doit plus être nécessaire, à moins que la violence de l'épidémie soit telle que les bandes entières soient complètement détruites en quelques jours. Dans ces conditions, en effet, « la propagation de l'épizootie à distance et sa conservation d'une année à l'autre ne seraient pas possibles » ; l'Homme devrait donc intervenir à nouveau pour créer de nouveaux foyers d'épidémies. Il ne semble pas possible qu'une épidémie, si violente soit-elle, détruise en totalité les



innombrables individus qui composent une seule bande de Criquets ; il faudrait pour cela que ceux-ci n'opposent aucune résistance à l'infection ; or, qu'il s'agisse d'animaux inférieurs ou supérieurs, c'est un fait bien connu que dans toute épidémie de nature bactérienne, une proportion plus ou moins importante d'individus résistent à l'infection et s'immunisent contre la maladie. D'ailleurs, aucun des expérimentateurs de la méthode proposée par D'HÉRELLE n'a pu confirmer pleinement les résultats obtenus par cet auteur. Or, si la mortalité n'est pas totale ou presque totale, et logiquement elle ne peut l'être, l'affirmation de D'HÉRELLE perd toute sa valeur et l'intervention de l'Homme n'est plus indispensable, la nature assurant elle-même dans le temps et dans l'espace la propagation des germes de l'épizootie.

Les observations de D'HÉRELLE sur la propagation à distance de ces germes sont sujettes à beaucoup de critiques : pour être en droit d'affirmer que des germes répandus en un lieu déterminé se sont dispersés, en quelques jours dans un rayon de plusieurs kilomètres, il aurait fallu prouver qu'il n'existait pas d'épidémie autochtone dans les régions où a été constatée la présence nouvelle du Coccobacille. Or, cette preuve n'a pas été donnée. L'insuffisance de preuve est particulièrement frappante dans un cas relaté par l'auteur. Dans la République Argentine, en 1912, « le premier vol d'invasion a été constitué, dit-il, par un vol provenant des provinces du Nord (où avaient été faites des infections artificielles) et s'est abattu en septembre 1912 sur les environs de Rio Quarto ; en novembre, j'ai trouvé de vieilles Sauterelles mortes et malades et j'ai isolé le Coccobacille du liquide de diarrhée. En janvier 1913, une forte épizootie fut signalée dans ces régions, sévissant sur les Criquets nés des pontes laissées par ces Sauterelles de l'invasion de septembre ; comme, intentionnellement, aucune infection n'avait eu lieu dans la contrée, il faut bien admettre que le virus provenait des infections de l'année précédente ».

L'auteur ajoute en note, « qu'on n'avait jamais signalé dans la République Argentine d'épizooties sévissant chez les Sauterelles avant les infections de janvier 1912 ». Il résulterait donc de ces constatations que l'épizootie artificiellement créée dans le nord du pays s'est propagée rapidement très loin vers le sud et que le virus s'est conservé d'une année à l'autre. Mais le fait qu'on n'avait jamais signalé d'épizootie antérieurement à 1912, malgré les observations constantes des Services chargés d'étudier les invasions de Sauterelles, ne constitue pas une

preuve suffisante de l'absence d'épidémies autochtones causées par le **C. acridiorum** ; ces épidémies ont pu exister, en effet, sans qu'on ait soupçonné leur existence ; elles ont pu échapper d'autant mieux aux investigations que l'attention n'était pas attirée sur elles. D'HÉRELLE explique lui-même pourquoi, en cas d'épidémie, on ne peut espérer trouver beaucoup de cadavres sur le terrain : « On comprend aisément, dit-il, que, dans la pratique, où l'épizootie dure souvent presque un mois pendant lequel la bande parcourt plusieurs kilomètres en s'éparpillant, se fractionnant, chaque fraction se réunissant bientôt à des fractions d'autres bandes où une grande partie des cadavres sont dévorés par les mêmes Criquets, par les Oiseaux et par les Insectes, il devient pour ainsi dire impossible de trouver des morts ». Ces raisons fort judicieuses prouvent suffisamment que des épidémies autochtones ont pu sévir en République Argentine, comme en d'autres pays ravagés par ce parasite, et échapper cependant à la vigilance des agents du Service de défense contre les invasions de Criquets. Il serait étrange d'ailleurs que ces épidémies autochtones ne jouassent aucun rôle en Argentine alors que partout ailleurs, en Algérie et au Maroc notamment (observations de SERGENT, VELU et BOUIN), elles occasionnent la mort d'une proportion importante de parasites. On peut faire remarquer en outre que le Coccobacille de D'HÉRELLE n'est pas le seul qui se rencontre chez les Criquets ; un certain nombre d'espèces voisines ont été isolées qu'il est difficile, après examen sommaire, de différencier de l'espèce-type. Rappelons à ce sujet les constatations de GLASER sur la diversité des espèces rencontrées suivant les régions où ont été isolés les Coccobacilles. Des quatres souches qu'il a eu l'occasion d'étudier, aucune n'appartenait à l'espèce-type de D'HÉRELLE.

La méthode proposée par D'HÉRELLE pour vérifier la marche de l'épizootie, méthode qui consiste à prélever un certain nombre de Sauterelles parmi les bandes infectées et à compter celles qui sont atteintes de diarrhée, serait excellente si l'on était sûr d'avoir toujours affaire à la même épidémie et s'il n'existait aucun Coccobacille autre que celui isolé par D'HÉRELLE capable de provoquer la diarrhée caractéristique. Or ce n'est pas le cas : rappelons tout d'abord les constatations de GLASER sur la diversité des espèces qui vivent en parasites sur les Criquets (p. 124) ; d'autre part, Et. SERGENT a signalé en Algérie (campagne 1915) l'existence d'une épidémie autochtone sévissant parmi les Criquets pélerins et causée par « deux virus différents, tous deux du même



groupe microbien que le virus de D'HÉRELLE » ; ces deux virus déterminent, comme ce dernier, la production d'une goutte noire diarrhéique.

En ce qui concerne la méthode de vérification de la présence du Coccobacille dans les cadavres de Sauterelles ou de Criquets, des critiques analogues à celles qui viennent d'être formulées peuvent être faites. Il ne suffit pas, en effet, de constater la production de la goutte anale diarrhéique à la suite d'injection de bouillie de cadavres triturés avec bouillon pour être en droit de conclure à la présence du **C. acridiorum** dans ces cadavres. Le séro-diagnostic proposé par D'HÉRELLE donnerait de meilleurs résultats, malheureusement l'emploi de cette méthode ne serait guère possible en dehors du laboratoire.

Mes recherches sur les microorganismes parasites des Insectes m'ont convaincu de la nécessité du contrôle permanent des espèces dont on se propose d'étudier la pathogénéité. Ce contrôle ne peut être superficiel mais doit porter sur les propriétés biochimiques et les réactions biologiques les plus caractéristiques. Du fait de ce contrôle obligatoire, les expériences de contamination artificielle apparaissent singulièrement compliquées ; mais ces expériences n'ont de valeur certaine que si elles sont faites avec le maximum de garantie ; c'est pourquoi on ne peut considérer les expériences en grand de D'HÉRELLE comme une démonstration suffisante de la valeur de son procédé de lutte contre les Criquets. Quant aux conclusions relatives à l'action pathogène du virus sur les Insectes autres que les Criquets, elles paraissent de même peu vraisemblables ; elles n'ont d'ailleurs pas fait l'objet d'applications pratiques depuis la publication du mémoire de D'HÉRELLE.

Les différents expérimentateurs de la méthode proposée par D'HÉRELLE pour lutter contre les Criquets sont loin d'avoir conclu aussi catégoriquement que cet auteur sur son efficacité.

BEGUET, à la suite des expériences qu'il a faites en Algérie en 1914, conclut ainsi :

« La pulvérisation d'une culture virulente de Coccobacilles crée dans la bande de Stauronotes une maladie épizootique caractérisée par une entérite ;

« L'épizootie est loin d'être foudroyante ; peu d'individus sont frappés à la fois, mais l'épizootie continue à se propager dans une même bande jusqu'à la fin de l'évolution des Acridiens. »

L'auteur reconnaît cependant « qu'il existe en Algérie, pour le Stauronote, des conditions qui gênent la propagation de l'épizootie : ces

Acridiens ne se dévorent entre eux que dans une minime proportion et ils évoluent dans des régions arides où la végétation clairsemée ne favorise pas la contamination des pâtures ».

Quoi qu'il en soit, la méthode D'HÉRELLE ne pourra constituer, d'après lui, « qu'un moyen adjuvant des procédés mécaniques déjà employés ».

Avec les **Schistocerca peregrina,** les conditions sont tout autres, car l'acridiophagie est très développée chez cette espèce. Cependant, les expériences faites par le même auteur au cours de la campagne 1915 n'ont pas donné de résultats très concluants : « La destruction opérée par cette méthode, dans de bonnes conditions ordinaires, est suffisamment importante, dit-il, pour être utilisée dans la pratique.

« En effet, si cette destruction est lente, si la méthode ne peut pas protéger les cultures voisines, elle peut être un élément appréciable de destruction générale des Criquets en prévision des invasions consécutives. »

Des conclusions similaires ont été formulées par Et. SERGENT et MUSSO à la suite des expériences qu'ils ont faites en Algérie au cours de l'année 1915. Des observations d'une plus grande portée pratique ont été faites par Et. SERGENT au sujet de l'existence d'épidémies autochtones dans les régions où avaient lieu les infestations. « Le **Coccobacillus acridiorum,** dit-il, n'a pas donné d'infection mortelle aux Criquets de la région de Sebdou. Une infection épidémique autochtone, due à la présence de deux virus différents, tous deux du même groupe microbien que le virus de D'HÉRELLE, a été constatée dans cette région chez les Sauterelles, puis chez les Criquets.

« Il y a lieu de penser que cette infection autochtone, peu meurtrière pour les Criquets, les a vaccinés contre le virus américain.

« La méthode biologique n'a donné aucun résultat dans cette région en 1915. »

L'auteur croit donc attribuer son insuccès à l'influence vaccinante de l'infection autochtone ; mais aucun fait d'expérience n'est cité à l'appui de cette hypothèse. S'il s'agissait de Vertébrés, l'explication serait plausible, mais chez les Invertébrés, chez les Insectes en particulier, on ne connaît encore que bien peu de cas d'immunité acquise. D'autre part, cette immunité, quand elle est bien caractérisée, est rigoureusement spécifique. L'hypothèse de SERGENT ne peut donc avoir qu'une valeur très relative et on ne peut la considérer comme une explication suffisante de l'insuccès constaté dans ses expériences d'infestation.



MUSSO, en conclusion de ses essais d'infestation du **Sch. peregrina,** dit que les résultats obtenus par la méthode biologique, très intéressants au point de vue théorique, n'ont plus qu'une importance relative au point de vue pratique :

1° Parce que la mortalité due à l'épizootie n'a pas été immédiate et a exigé au contraire un délai de deux à cinq jours pour se déclarer ;

2° Parce que la destruction des Criquets par cette méthode n'a pas été complète. L'importance de la mortalité a été sensiblement proportionnelle à l'intensité du traitement dans les bandes D1, D2 et D3. Dans les trois expériences, l'épizootie tend vers une extinction plus ou moins rapide, selon que le traitement est suspendu plus ou moins vite. Cette extinction doit être attribuée plutôt à un défaut de contamination qu'à une immunité puisque l'inoculation directe du Coccobacille tue vingt sur vingt-quatre, c'est-à-dire sensiblement 80 % des survivants. MUSSO explique cette diminution de leur activité ambulatoire, par l'action des ennemis naturels, plus intense sur les malades que sur les Criquets sains, par l'exaltation extrême du virus qui tend à intoxiquer plutôt qu'à infecter.

Cette dernière raison est hypothétique ; l'auteur ne donne aucune preuve de l'action toxique du virus. Nous avons vu antérieurement que la mort des Insectes inoculés avec Bactéries entomophytes survenait presque toujours à la suite d'une pullulation excessive des germes pathogènes dans le sang et les tissus, mais très rarement à la suite d'une intoxication proprement dite. En tout cas, il paraît bien démontré que les Invertébrés, d'une manière générale, sont incomparablement moins sensibles à l'action des toxines microbiennes que les Vertébrés. Si l'hypothèse de MUSSO est bien fondée, et il est facile de mettre à l'épreuve son exactitude, elle constitue une exception remarquable à cette règle générale.

VELU et BOUIN, au Maroc, ont fait une série d'expériences très complètes pour déterminer la valeur pratique de la méthode D'HÉRELLE dans la lutte contre le **Sch. peregrina.** En 1915, ils concluaient, à la suite de leurs premières expériences, que « la méthode D'HÉRELLE donne des résultats encourageants. En partant d'un Coccobacille suffisamment exalté, on peut créer : soit par la pulvérisation des bouillons, soit par la contamination à l'aide des Criquets malades, des épizooties très conta-

gieuses et quelquefois très meurtrières dont la marche est loin d'être foudroyante.

« La constatation des résultats est chose très difficile. L'évolution de l'épizootie doit être surveillée par l'étude du pourcentage de la mortalité en cage et non par l'étude de la morbidité.

« La virulence du Bacille de D'HÉRELLE nous semble très fugace et ses atténuations entraînent des échecs partiels qui ne doivent cependant pas faire rejeter le précédent.

« Malgré ces imperfections, il convient de prendre, dès maintenant, toutes les mesures utiles en vue de l'appliquer largement lors des nouvelles invasions de Sauterelles en la combinant judicieusement aux autres méthodes de destruction. »

Au cours des campagnes suivantes, VELU a pu constater, comme SERGENT en Algérie, que l'existence d'épidémies autochtones rendait très difficile ou même impossible la contamination artificielle des Acridiens. La conclusion tirée des expériences faites en 1919 est nettement défavorable : la méthode biologique, « extrêmement intéressante au point de vue expérimental, ne saurait être préconisée dans la pratique, pour le moment du moins ».

MERESKOWSKY, en Russie, a souvent observé dans le sang de **Locusta migratoria** d'apparence saine, des Coccobacilles analogues à celui de D'HÉRELLE ; il ne serait donc pas impossible, conclut-il, qu'au cours des passages successifs, le microbe injecté changeât d'identité ; on ne pourrait alors utiliser la dernière série inoculée que si l'on est sûr d'avoir affaire à une culture pure possédant un pouvoir pathogène pour contaminer les Locustes **per os.**

En Egypte, MC KILLOD et GOUGH n'ont obtenu que peu de résultats positifs dans leurs essais de contamination artificielle des Acridiens par le **Coc. acridiorum.**

De même au Canada, DU PORTE et VANDERLEK n'ont pas réussi à créer des épidémies artificielles par pulvérisation de cultures vivantes ; les deux auteurs font très justement remarquer que l'insuccès peut tenir aux mœurs des Acridiens du Canada, en particulier, à leurs habitudes sédentaires (aucune des espèces du Dominion n'est cannibale). Comme VELU, SERGENT, MERESKOWSKY, ils ont constaté chez ces Acridiens la présence de Coccobacilles identiques à celui décrit par D'HÉRELLE ou peu différents de ce type ; ces Coccobacilles immuniseraient les Insectes contre le virus américain d'origine.



KRAUSS rapporte qu'en Argentine, la Commission du Ministère de l'agriculture chargée spécialement d'étudier la méthode préconisée par D'HÉRELLE a conclu à la suite de ses expériences propres :

1° Qu'il n'est pas possible de produire en pleins champs l'infection épidémique et la mort des jeunes Locustes par pulvérisation d'une culture de **Coc. acridiorum** dont la virulence a été préalablement exaltée ;

2° Que le Coccobacille est un hôte normal de l'intestin des Locustes bien portantes et qu'il les tue seulement par inoculation dans la cavité générale ;

3° Que l'infection ne se produit pas lorsque le Coccobacille est ingéré par les Locustes avec la nourriture.

Au Cap, LUNSBURY n'a pas eu de résultats bien nets dans ses expériences d'infestation artificielle du **Zonoceras elegans** ; sans condamner tout à fait la méthode, il n'en recommande l'emploi qu'en supplément de la méthode de traitement arsénical.

MACKIE, aux Iles Philippines, n'enregistre que des résultats très insuffisants dans ses expériences et ne recommande pas la méthode.

La Commission scientifique chargée de faire des recherches sur les Locustes nuisibles dans l'État de Vera Cruz a trouvé le **Coc. acridiorum** dans tous les exemplaires de **Schistocerca paranensis** examinés et même dans les œufs ; le Bacille vivrait donc en symbiose avec l'Insecte.

POSPELOV a émis une opinion analogue et considère le Coccobacille comme un symbiote normal du sang de **Locusta migratoria.** Dans certaines conditions, cependant, il est capable de se transformer en parasite dangereux pour l'hôte.

Les conclusions de PETCH, dans l'Ile de Ceylan, sont très défavorables, non seulement à l'emploi du Coccobacille de D'HÉRELLE dans la lutte contre les Criquets, mais également à celle de toute méthode basée sur l'emploi des Champignons et autres microorganismes entomophytes.

En résumé, la plupart des auteurs qui ont expérimenté la méthode biologique préconisée par D'HÉRELLE s'accordent pour la juger insuffisante comme moyen de lutte contre les Acridiens ; aucun n'ose suivre cet auteur dans ses conclusions beaucoup trop optimistes ; un certain nombre même la condamnent sans réserves.

La conclusion naturelle qui découle de cette étude critique et historique de la seule méthode pratique proposée jusqu'ici pour lutter contre les Insectes nuisibles par les Bactéries, est que sa valeur pratique

n'est rien moins que démontrée. Mais il n'est pas prouvé non plus que toute tentative de lutte par les infestations artificielles soit invariablement vouée à l'insuccès. A mon avis, D'HÉRELLE semble avoir conçu trop simplement la méthode qu'il a proposée ; en fait, cette méthode est extrêmement complexe et elle pose un certain nombre de problèmes dont la solution n'a pas encore été donnée. La création d'épidémies artificielles suppose la mise en œuvre de facteurs dont beaucoup, ainsi que je l'ai déjà dit, sont inconnus et échappent à l'influence de l'Homme ; ces facteurs réagissent les uns sur les autres soit pour aggraver l'épidémie, soit pour en arrêter le cours ; la résultante générale de toutes les forces en action au cours d'une épidémie est mesurée grossièrement par le taux de mortalité ; ce taux varie suivant le milieu, le moment où l'on opère ; peut-être faut-il voir dans ce fait l'explication des résultats divergents enregistrés par les expérimentateurs de la méthode D'HÉRELLE.

Qu'il s'agisse des Insectes ou des autres Invertébrés, nous ignorons presque tout des conditions de l'épidémie et c'est pourquoi nous sommes le plus souvent incapables de la provoquer ; même lorsqu'il s'agit de l'Homme ou des autres Vertébrés supérieurs, les causes profondes qui modifient dans un sens ou dans l'autre la marche des épidémies sont généralement ignorées. Il ne suffit donc pas de bien connaître l'agent d'une épidémie pour se croire en mesure de la déclencher à volonté ou d'en arrêter le cours. Etudier en détail la morphologie et la biologie du microbe hors du milieu naturel où il évolue normalement, c'est faire œuvre de naturaliste pur ; la connaissance totale de la méthode biologique exige une autre étude beaucoup plus difficile et plus complexe : celle des rapports du microbe avec son hôte et avec le milieu où l'un et l'autre évoluent. Le milieu extérieur joue un rôle beaucoup plus important chez les Invertébrés que chez les Vertébrés à température constante ; ces derniers restent relativement semblables à eux-mêmes en dépit des changements de milieu, ces changements ne dépassant pas toutefois les limites des variations ordinaires ; chez les Invertébrés, au contraire, le milieu intérieur est beaucoup moins indépendant du milieu extérieur et toute variation de ce dernier entraîne une variation correspondante du premier, de telle sorte que les conditions de développement du microbe parasite sont modifiées à chaque instant. Il en résulte une difficulté plus grande dans l'étude de l'épidémiologie chez les Invertébrés que chez les Vertébrés ; or cette étude est à peine ébauchée ; dans



ces conditions, il est logique d'admettre que l'application pratique de la méthode D'HÉRELLE devait donner lieu à beaucoup de mécomptes.

Tout récemment, on a cru devoir proposer l'emploi de Bactéries pathogènes dans la lutte contre la Pyrale du maïs dont les dégâts sont particulièrement graves en Amérique. METALNIKOV et CHORINE, en particulier, ont isolé de chenilles malades un certain nombre de Bactéries dont quelques-unes seraient capables d'infecter **per os** les chenilles. L'expérience qu'ils ont faites en 1928 dans le champ d'expériences du Jardin botanique de Zagreb avec **Coccobacillus ellengeri, Bacterium canadensis, Bact. galleriæ** N° 2, **Bact. thurngiensis** paraît avoir donné des résultats intéressants. La culture sur milieu solide était émulsionnée dans l'eau distillée puis pulvérisée sur des tiges de maïs. Trois à dix jours après la pulvérisation, des chenilles de Pyrale étaient placées sur les tiges. Au bout de deux à trois semaines, les tiges traitées avec **C. ellengeri** et **B. galleriæ** N° 2 différaient peu des tiges témoins alors que celles traitées avec **B. canadensis** et surtout avec **B. thuringiensis** étaient peu attaquées ou même indemnes de parasites.

Une application en grand a été faite en Hongrie par BELA HUSZ avec **B. thuringiensis** en utilisant la culture d'un tube de gélose pour un litre d'eau. La pulvérisation a été faite dans un champ de 3000 pieds environ le 7 juillet 1929, au moment de la ponte. L'expérimentateur évalue le pourcentage des tiges parasitées à 41,32 % dans la parcelle témoin et à 23,43 % dans le champ d'expériences. Dans une autre plantation traitée le 24 juillet, les pourcentages sont respectivement de 32 % et 19 %.

Ces résultats sembleraient donc favorables à la méthode biologique basée sur l'emploi des Bactéries entomophytes dans la lutte contre la Pyrale du maïs. Mais nous sommes loin des espoirs suscités par la publication du premier mémoire de D'HÉRELLE.

J'ai cru devoir insister sur les difficultés d'application de la méthode biologique basée sur l'emploi des Bactéries plutôt que sur ses avantages, non que je demeure sceptique sur l'avenir de cette méthode, mais parce que je juge indispensable de bien faire connaître toute l'étendue et la complexité de l'œuvre à réaliser avant d'en commencer l'exécution. L'erreur de tous ceux qui ont voulu préconiser la création d'épidémies artificielles pour lutter contre les Insectes nuisibles, qu'il s'agisse d'épidémies causées par les Cryptogames ou d'épizooties de nature bac-

térienne, est d'avoir méconnu les lois qui régissent la méthode proposée et d'ignorer la valeur réelle des forces naturelles mises en œuvre. Aussi, toutes les méthodes particulières préconisées depuis un demi-siècle et basées sur l'emploi des Champignons ou des Bactéries ont-elles été successivement abandonnées dans la pratique.

---

CHAPITRE XXII

# Rôle des insectes et autres arthropodes dans la transmission des maladies.

L'étude du rôle des Arthropodes ectoparasites de l'Homme est des Animaux domestiques dans la propagation des maladies infectieuses ferait à elle seule la matière d'un important ouvrage. Ne pouvant lui consacrer ici que quelques pages, je me bornerai à résumer brièvement l'état de nos connaissances sur ce point d'après les traités classiques et les travaux les plus récents. Je crois cependant devoir m'étendre plus longuement sur le rôle des Arthropodes dans la propagation de maladies d'un type particulier dont la cause est attribuée à des microorganismes encore peu connus : les Rickettsia (Typhus et fièvres exanthématiques en particulier), car l'étude de ce rôle pose des problèmes qui touchent directement à ceux qui ont été longuement étudiés au cours des précédents chapitres.

## Article I.

### MALADIES BACTÉRIENNES

Les recherches de ces dernières années consacrées à l'étude épidémiologique des maladies de l'Homme et des animaux domestiques ont fait ressortir l'importance du rôle joué par les réservoirs de virus dans la nature et par les agents vecteurs.

Dans la peste, par exemple, on peut dire que l'épidémiologie de cette maladie est conditionnée avant tout par la multiplication du parasite chez les Rats et par le transport des germes par les ectoparasites de cet animal qui vivent également sur l'Homme, en particulier par les Puces : **Xenopsylla cheopis** et, dans une moindre mesure, **Pulex irritans.** Le Bacille de la peste peut se multiplier également chez d'autres Rongeurs que le Rat et même chez le Chat et le Chameau. Les Tiques sont susceptibles de jouer le rôle d'agents vecteurs comme les Puces. Les Bacilles ingérés se multiplient dans le tube digestif de l'Insecte ou des Tiques et peuvent être rejetés en dehors au moment de la piqûre.

Le rôle des Mouches dans la propagation des maladies infectieuses est connu depuis très longtemps. D'après WOLLMANN, « Ambroise PARÉ et MERCURIAL leur attribuaient un rôle dans la dissémination du virus de la peste ». Le transport des germes de la maladie du charbon par les Mouches a été démontré expérimentalement par RIMBERT et DAVAINE. Le rôle des Mouches dans la propagation de la fièvre typhoïde a fait l'objet de nombreuses observations ; certains auteurs ont même admis que les Bacilles typhiques ingérés par les larves se retrouvent chez l'adulte ; mais WOLLMANN a démontré expérimentalement, en employant la méthode des élevages aseptiques, que les Bacilles typhiques, dysentériques, tuberculeux et la Bactérie charbonneuse ne passent pas de la larve chez l'adulte ; le même auteur a montré que les Mouches adultes infectées avec ces différents germes peuvent rester infectantes pendant plusieurs semaines (22 jours dans une expérience). En fait, dans la pratique, les Mouches infectées mettent généralement 8 à 10 jours pour se débarrasser de leurs germes.

Le rôle des Insectes ou Arthropodes piqueurs acquiert une importance capitale dans la propagation d'une maladie bactérienne à peu près inconnue en France mais assez répandue en diverses régions des Etats-Unis et du Japon : la Tularémie. L'agent de cette maladie, **Bact. tularense,** est surtout un parasite des Rongeurs, plus particulièrement du Lapin qui constitue le principal réservoir de virus dans la nature. L'Homme s'infecte directement en manipulant le Lapin ou par l'intermédiaire d'ectoparasites divers, en particulier des Tiques de bois appartenant au genre **Dermacentor** et de la Punaise des lits (**Cimex lectularius**). La maladie est héréditaire chez les Tiques ; celles-ci jouent donc, comme le Lapin, le rôle de réservoir de virus.



Article 2

## LES SPIROCHÉTOSES

Les Insectes et les Tiques jouent un rôle prépondérant dans l'épidémiologie des Spirochétoses ou fièvres récurrentes.

Le rôle vecteur du Pou dans la propagation de la fièvre récurrente mondiale causée par **Treponema recurrentis,** Obermeier 1868, a été soupçonné par différents auteurs, mais c'est à Ch. NICOLLE et ses collaborateurs BLAIZOT et CONSEIL que revient le mérite d'avoir précisé l'importance de ce rôle dans l'évolution du parasite et de fixer les mesures prophylactiques susceptibles d'enrayer les épidémies. Les Spirochètes ingérés par le Pou avec le sang des malades, subissent dans son organisme des modifications très curieuses : ils perdent d'abord leur motilité puis semblent disparaître complètement et réapparaissent ensuite sous leur forme ordinaire vers le 6ᵉ jour. Les parasites libérés par écrasement des Poux peuvent infecter l'Homme à la faveur des plaies superficielles ou des excoriations de la peau. Avec LEBAILLY, C. NICOLLE a montré que les Spirochètes, après pénétration dans le tractus intestinal, s'introduisent tout d'abord dans les cellules épithéliales ; c'est dans ces cellules qu'ils donnent naissance au stade invisible ; on les retrouve ensuite en abondance dans la cavité générale. Les Spirochètes subissent donc dans l'organisme de l'Insecte des transformations qui doivent être considérées comme les stades du développement cyclique du parasite.

Plusieurs espèces de Tiques, en dehors du Pou, sont susceptibles de propager la récurrente mondiale. D'après BRUMPT, KRITSCHEVSKI aurait réussi tout récemment à transmettre le parasite à des Souris en utilisant l'**Ornithodorus papillipes,** vecteur habituel de la fièvre à Tiques de l'Asie centrale déterminée par **Trep. persicum** (= **usbekistanicum,** = **sogdianum**).

Des processus analogues à ceux qui ont été décrits chez le Pou se déroulent chez les Ornithodores qui propagent les autres fièvres récurrentes dites : fièvres à Tiques et parmi lesquelles on peut citer : la fièvre africaine causée par **Treponema duttoni,** la fièvre à Tiques de Perse et régions voisines causées par **Trep. persicum** (= **sogdianum**) ; la fièvre américaine causée par **Trep. venezualense** ; la récurrente espagnole causée par **Trep. hispanicum.** P. HATT, étudiant l'évolution des

Spirochètes chez les Ornithodores, a constaté qu'ils pénètrent dans les cellules épithéliales de l'intestin (cellules en massue) où ils apparaissent pelotonnés; après trois jours, ils se fragmentent en courts bâtonnets souvent terminés à l'une de leurs extrémités par un granule. Les formes spiralées mobiles réapparaissent dans la cavité générale après quelques jours

La propagation de la récurrente mondiale est beaucoup plus rapide que celle des autres récurrentes en raison de la dispersion beaucoup plus grande de l'agent vecteur parmi les Hommes.

Les Spirochètes des Ornithodores peuvent passer assez facilement d'une génération à l'autre, mais les Tiques infectées de 2[e] génération sont en général incapables d'infecter les animaux sensibles. Chez le Pou, le passage des Spirochètes chez les descendants est exceptionnel.

C'est l'Homme qui constitue le principal réservoir à virus de la récurrente mondiale. Dans le cas des récurrentes à Tiques, il existe plusieurs réservoirs de virus dans la nature parmi les animaux sauvages ou domestiques. DELANOË a montré par exemple que les Tiques récoltées dans les terriers de Porc-épics et de Renards étaient souvent infectantes dans les régions où règne la récurrente à **Trep. hispanicum**, S. de Buen var. **marocanum**, Nicolle et Anderson. D'après NICOLLE et ses collaborateurs, les réservoirs de virus devraient être cherchés principalement parmi les petits Rongeurs sauvages. Bien que la récurrente espagnole ait été observée surtout dans les porcheries en Espagne, le Porc ne constitue pas un réservoir de virus, mais il joue un rôle indirect dans l'épidémiologie de la maladie en favorisant le développement des Tiques vectrices du Spirochète.

## Article 3

## TRYPANOSOMIASES ET LEISHMANIOSES

Les maladies à Trypanosomes font surtout des ravages dans les régions tropicales. L'une des plus connues est la maladie du sommeil qui a pour cause **Trypanosoma gambiense** et pour agent de transmission un Diptère des régions tropicales : **Glossina palpalis.** Le parasite introduit dans l'organisme de l'Insecte au moment où il suce le sang de malade, se multiplie dans le tube digestif. La Glossine reste infectante



pendant plusieurs mois. D'après KOLLE et HETCH, « les recherches faites par KLEINE dans l'Afrique orientale ont montré que les Mouches infectées peuvent transmettre les Trypanosomes à leurs descendants. Elles ont prouvé également que le **Tryp. brucei**, parasite du Nagana, qui a pour agent ordinaire de transmission la **Glossina morsitans**, peut aussi parcourir son cycle de développement dans la **Gl. palpalis** tout en conservant sa virulence pour l'animal ».

Le Trypanosome du Rat (**Tr. lewisi**) est véhiculé d'animal à animal par divers Insectes piqueurs, en particulier les Poux et les Puces.

Le Nagana des Mammifères, très commun en Afrique, a pour cause **Tr. brucei** et pour agent de transmission diverses Glossines. Le développement du parasite dans l'intestin de ces Insectes a été étudié par KOCH qui a constaté l'existence de formes plus courtes que chez les Mammifères, de formes vraisemblablement sexuées et d'autres, minces et allongées, réunies par amas.

Les Leishmania sont des Protozoaires flagellés vivant en parasites dans les cellules de l'organisme de l'Homme et de différents Mammifères. Dépourvus de flagelle pendant toute la vie intracellulaire, ils en acquièrent un en culture sur milieu artificiel et deviennent très mobiles. Les Leishmanioses sont des maladies des pays chauds ; parmi les plus communes, on peut citer : la Leishmaniose tropicale ou bouton d'Orient causée par **Leishmania tropica**, Wright 1903, la Leishmaniose forestière américaine causée par **L. brasiliensis**, Vianna 1911, qui sont des Leishmanioses cutanées, les Leishmanioses viscérales ou Kala azar causées par **L. donovani**, Laveran et Mesnil 1903.

On est beaucoup moins bien renseigné sur la transmission des Leishmanioses par les Insectes que sur celle des fièvres récurrentes. En général, on incrimine les Phlébotomes : **Phlebotomus argentipes** pour l'Inde ; **Ph. chinensis** pour la Chine et **Ph. perniciosus** pour le bassin méditerranéen. Les réservoirs de virus n'ont pu être déterminés avec certitude ; le chien est souvent infecté, sauf cependant dans l'Inde et en Chine. Le virus méditerranéen peut être expérimentalement transmis au Chien, puis du Chien aux Phlébotomes. D'autres animaux sont sensibles à l'infection (Chacal et Renard d'après NICOLLE et ses collaborateurs; Chat, Chèvre, Cheval, différents Rongeurs, etc.) ; ces animaux peuvent donc jouer le rôle de réservoirs de virus dans la nature.

Article 4

## MALADIES A VIRUS HÉMOPHILE

Le rôle des Insectes piqueurs, en particulier des Moustiques, dans la transmission du paludisme est un des mieux connus et des plus typiques. Contrairement à ce qui se passe dans la propagation des maladies bactériennes, l'Insecte vecteur joue un rôle actif dans l'évolution cyclique du parasite ; c'est dans son organisme en effet que celui-ci se reproduit sous sa forme sexuée.

Récemment, deux auteurs italiens, G. Ascione et E. Mariotti, ont montré que le liquide céphalo-rachidien et le sang de paludéens prélevés pendant l'accès fébrile restaient virulents après filtration sur bougies Berkefeld V et N. Ces faits sembleraient démontrer l'existence d'éléments parasitaires beaucoup plus petits que ceux qui ont été décrits jusqu'ici. L'évolution cyclique de l'Hématozoaire du paludisme serait donc marquée par l'existence d'une phase invisible filtrante comme celle du Spirochète de la récurrente.

Comme l'Hématozoaire du paludisme, les Piroplasmes sont des parasites d'hématies qui se rencontrent principalement chez les Bovidés ; mais il en existe également chez le Chien, le Cheval, le Mouton. La piroplasmose bovine est très répandue en toutes régions ; elle se propage par l'intermédiaire des Tiques.

Dans l'Amérique du Nord, le vecteur habituel de **Babesia bigemina,** Smith et Kilbourne est **Margaropus annulatus,** Say. Les recherches récentes de E. W. Dennis ont montré que l'évolution du parasite comporte deux phases : une phase asexuée dans l'organisme de l'hôte-Vertébré (hématies) ; une phase sexuée dans l'organisme de l'hôte-Invertébré. Dennis a montré en outre que les éléments parasitaires sont transmis d'une génération à l'autre chez la Tique ; celle-ci constitue donc un réservoir de virus pour **B. bigemina.**

D'après Cowdry et Ham qui ont étudié plus particulièrement la fièvre côtière orientale des Bovidés (« East Coast fever ») causée par **Theileria parva,** le cycle évolutif du parasite dans la Tique vectrice comprend les stades suivants :

1° Libération des parasites des hématies dans l'intestin ;



2° Apparition des éléments mâles et femelles et phénomènes de conjugaison ;

3° Destruction d'un grand nombre de formes libres ; quelques-unes pénètrent dans les cellules épithéliales vers le 6e jour et grossissent ; mise en liberté de formes mobiles ressemblant à des Euglènes qui passent dans la cavité générale et peuvent être observées en contact avec les cellules des glandes salivaires, puis à l'intérieur de celles-ci où elles se transforment en éléments ressemblant à des spores. Ces éléments grossissent et donnent naissance à une masse muriforme ; la partie superficielle de la masse produit des formes minces qu'on observe habituellement dans les glandes salivaires au moment où la Tique s'alimente à nouveau.

Article 5

## MALADIES A VIRUS FILTRANT ET A RICKETTSIA

### FIÈVRE JAUNE

Le virus de nature encore inconnue qui cause cette grave maladie, est transmis par un Moustique : **Stegomya fasciata.** Le rôle de l'Insecte vecteur n'est pas purement mécanique et passif : celui-ci ne devient en effet infectant que 12 à 18 jours après avoir absorbé le sang de malade ; pendant cette longue incubation, le parasite doit subir des transformations qui le rendent aptes à infecter de nouveaux individus.

### FIÈVRES EXANTHÉMATIQUES

On réunit actuellement sous cette dénomination un certain nombre d'affections ayant entre elles des affinités étiologiques probables, mais qui diffèrent néanmoins par certains caractères cliniques, par leur mode de propagation et par leur répartition géographique.

Le **Typhus exanthématique** désigné également sous le nom de Typhus de l'Ancien Monde ou de Typhus historique, est le type le mieux connu de ce groupe d'affections. Par l'étendue des ravages qu'il a causés autrefois et tout récemment encore au cours de la dernière

guerre, le Typhus exanthématique prend place à côté des grands fléaux comme la peste et le choléra.

C'est à Ch. NICOLLE et ses collaborateurs COMTE et CONSEIL que revient le mérite d'avoir mis en évidence le rôle capital joué par le Pou dans la propagation de la maladie. D'autres auteurs avant eux avaient déjà eu l'intuition de ce rôle. NICOLLE, COMTE et CONSEIL montrèrent que le Pou s'infecte réellement en absorbant le sang de typhique et qu'il peut ensuite communiquer la maladie à certains animaux sensibles comme le Chimpanzé, le Cobaye, le Rat et à l'Homme. Chez le Singe, la maladie évolue sensiblement comme chez l'Homme ; le Cobaye ne présente comme seul symptôme qu'une élévation de la température ; quant au Rat, il ne présente aucun signe visible d'infection, mais il reste infectieux. Cette constatation est très importante au point de vue épidémiologique, non seulement dans le cas du Typhus, mais également dans celui de beaucoup de maladies infectieuses. On attache aujourd'hui une très grande importance aux « infections inapparentes » dans l'épidémiologie des maladies infectieuses en général.

La découverte de NICOLLE et de ses collaborateurs a été l'origine de nombreux travaux qui ont compliqué, ou plutôt qui ont fait ressortir la complexité d'un problème que l'on croyait très simple à l'origine.

Mentionnons tout d'abord la découverte de l'agent infectieux dans l'intestin du Pou par DA ROCHA LIMA en 1916 ; le parasite se présente sous forme de petits éléments bactériens de forme ovoïde mesurant $0,3 \times 0,4\ \mu$ ou d'éléments plus allongés mesurant jusqu'à $0,9\ \mu$ de long. DA ROCHA LIMA les considéra comme des microorganismes différents des Bactéries ordinaires et leur donna le nom de **Rickettsia prowazeki** en mémoire d'un médecin américain, RICKETTS, qui les avait observés sans soupçonner leur rôle étiologique et en hommage à PROWAZEK qui observa des éléments identiques dans les leucocytes neutrophiles des malades. Les Rickettsia se rencontrent en abondance dans les cellules épithéliales et la lumière intestinale du Pou ; elles peuvent être facilement mises en évidence sur frottis.

BACOT et SEGAL en 1922 montrèrent qu'on peut contaminer facilement des Poux par injection anale de sang de Cobaye infecté ; les Poux ainsi contaminés peuvent infecter de nouveaux Cobayes ; enfin l'infection peut être transmise de Pou à Pou sans que la virulence du parasite soit diminuée.



L'infection de l'Homme ou des animaux sensibles ne résulte pas, comme on pourrait le croire, des piqûres du Pou ; en effet, comme l'ont montré ATKIN et BACOT, le parasite ne se rencontre pas dans les cellules des glandes salivaires, condition indispensable pour qu'il puisse être inoculé au moment de la piqûre. Déjà NICOLLE avait constaté que la contamination de l'Homme avait pour cause la mise en liberté du virus par écrasement des Poux ou par les excréments et la pénétration dans l'organisme par les plaies superficielles. D'après ARKWRIGHT et BACOT, les excréments restent virulents, à l'état de poudre sèche, pendant 12 jours environ à la température du laboratoire.

L'existence de **Rickettsia prowazeki** dans les Poux de vêtement (**Pediculus vestimenti**) a été démontrée par W. BARYKIN, A. ZACHAROFF, A. KOMPANEEZ et O. BARYKIN qui ont constaté l'hypertrophie des cellules épithéliales de l'intestin sous l'influence du parasite, puis leur destruction et la mise en liberté d'une masse énorme d'éléments parasitaires.

L'Homme est le principal réservoir de virus du Typhus exanthématique. Comme l'ont montré BARYKIN, MINERVINE et KOMPANEEZ, il existe des formes inapparentes de la maladie chez l'Homme ; ces infections inapparentes jouent un rôle important dans la genèse des épidémies.

PINKERTON et HASS ont constaté le développement de **R. prowazeki** dans des cultures de tissus obtenues à partir de fragments de la membrane recouvrant le testicule de Cobaye et en utilisant comme matériel de contage l'exsudat du sac scrotal de Cobayes malades.

WOODCOCK a contesté la nature organisée des Rickettsia ; d'après lui, les éléments parasitaires ne représenteraient que des résidus hémoglobiques ou des produits de karyolyse de cellules malades, le virus effectif étant une enzyme anormale hémométabolique.

Une autre hypothèse a été envisagée à la suite de la découverte par WEIL et FELIX de propriétés agglutinantes du sérum de typhique pour certaines souches de **Bacillus proteus** (souche X19 principalement) obtenues à partir de Bacilles trouvés dans l'organisme d'animaux infectés. Étant donné ce que l'on sait de la séro-agglutination, il semblerait en effet logique de conclure à une intervention active du Bacille agglutiné spécifiquement dans le déclenchement des processus morbides caractéristiques du Typhus. C'est l'opinion défendue notamment par Br. FEJGIN qui dit avoir isolé plusieurs souches différentes de Pro-

teus à partir d'organes divers de Cobayes typhiques et avoir constaté en outre que le Typhus exanthématique immunise les Cobayes contre ces Bacilles. Fait plus important encore, l'auteur aurait obtenu des cultures positives de Proteus à partir d'intestins de Poux typhiques après ensemencement sur milieux spéciaux ; ces cultures désignées sous le nom de HX19 ayant été lysées par un Bactériophage spécifique conserveraient leur pouvoir pathogène et immunisant spécifique pour les Cobayes et les Lapins. « L'inoculation du Bactériophage anti-HX 19 à des Cobayes fait apparaître, dit FEIGIN, une maladie qui ressemble à celle de NICOLLE ; comme d'autre part, les Cobayes ainsi inoculés deviennent réfractaires vis à vis du virus de passage du Typhus exanthématique, je crois pouvoir supposer que le Bactériophage anti-HX 19 joue un rôle important dans le Typhus exanthématique expérimental ». En somme, d'après FEIGIN, le **Bacillus proteus,** sous sa forme filtrante, représenterait la vraie cause morbide du Typhus. Malgré la valeur des arguments avancés à l'appui de cette thèse, l'opinion de FEIGIN ne semble pas avoir fait beaucoup d'adeptes jusqu'ici. D'une manière générale, l'opinion qui prévaut actuellement, c'est que le Typhus exanthématique dit historique a effectivement pour cause les Rickettsia trouvées dans l'intestin du Pou après ingestion de sang infecté.

## TYPHUS MEXICAIN ET TYPHUS ENDÉMIQUE BÉNIN

A côté du Typhus historique ou de l'Ancien Monde, les auteurs américains admettent l'existence d'un autre Typhus particulier au Nouveau Monde et plus spécialement au Mexique où il est désigné généralement sous le nom de **Tabardillo.** Cliniquement, le Typhus mexicain diffère peu de l'autre ; NICOLLE considère même ces différences comme secondaires et admet que les deux maladies n'en font vraisemblablement qu'une seule. Cependant des différences assez importantes existent dans le mode de propagation, dans les réactions des animaux sensibles et dans les réservoirs de virus. Alors que dans le Typhus de l'Ancien Monde, c'est l'Homme qui constitue le principal réservoir de virus, dans le Typhus mexicain, c'est au Rat qu'est dévolu ce rôle ainsi qu'il résulte des observations de DYER et ses collaborateurs, puis de MOOSER, CASTANEDA et ZINSSER. Ces auteurs ont montré que les Poux et Puces jouent le rôle de vecteurs. D'après MOOSER, CASTANEDA et ZINSSER, le pou du Rat (**Polyplax spinulosus**) est le principal ectoparasite qui propage la maladie de Rat à Rat à Mexico. Les Rickettsia qui, morphologiquement, sont identiques à celles du Typhus de l'Ancien Monde, se multiplient très activement dans l'intestin du Pou ; les mêmes éléments rickettsiens sont observés en grand nombre dans le péritoine des Rats infectés **per cutem.** La maladie peut être transmise à l'Homme par plusieurs espèces de Puces, mais plus particulièrement par **Xenopsylla cheopis** qui se rencontre à la fois sur le Rat et sur l'Homme. MOOSER et DUMMER montrèrent en outre que le virus du Nouveau Monde se multiplie dans l'intestin du Pou de vêtements comme celui de l'Ancien Monde.



DOVE et SHELMIRE ont montré en 1931 que **Liponyssus bacoti,** petit Acarien tropical parasite du Rat dont les larves se rencontrent également sur l'Homme, est capable de transmettre le virus du Typhus endémique. L'infection de Cobayes était obtenue à la fois par inoculation d'Acariens écrasés et par morsures de larves provenant de femelles nourries sur cobayes infectés. L'infection serait donc héréditaire chez le Liponyssus.

Des cas de Typhus endémique bénin ont été signalés en différentes contrées : notamment aux Etats-Unis (Maladie de Brill), en France (Typhus bénin de la région parisienne étudié par NETTER, Typhus des navires de guerre à Toulon étudié par PLAZY, MARÇON et CARBONI, puis par MARCANDIER, BIDEAU et PIROT), en Grèce (Typhus bénin d'Athènes étudié par LÉPINE). C'est également le Rat qui constitue le principal réservoir de virus ; les Puces du Rat, en particulier **Xenopsylla cheopis,** jouent le rôle de vecteur habituel.

Le typhus bénin qu'on peut désigner aussi sous le nom de Typhus murin, comme d'ailleurs le Typhus mexicain, est universellement répandu. LE CHUITON et MOUREAU ont même constaté que les Rats de Bordeaux pouvaient être porteurs d'un virus identique à celui qui cause le Typhus endémique bien que l'existence de cette maladie chez l'Homme n'ait pas été constatée jusqu'ici à Bordeaux. De même ROCHAIX, SÉDALLIAN et COUTURE ont trouvé sur des Rats, à Lyon, 10,77 % de réactions de Weil-Felix positives ; l'inoculation du cerveau au Cobaye a provoqué une élévation thermique à partir du quatorzième jour, mais pas de réaction scrotale. La question se pose de savoir si la cause morbide du Typhus murin est la même que celle du Typhus historique.

Les expériences récentes faites par MOOSER à Tunis ont montré

que le virus de l'Ancien Monde pouvait infecter les Puces comme le virus mexicain et que celles-ci devenaient infectantes pour le Cobaye ; fait curieux, les Cobayes infectés par les Puces présentent les lésions scrotales caractéristiques du Typhus mexicain. D'autre part, le virus de passage par Puces immunise à la fois contre le virus de l'Ancien Monde et le virus mexicain. MOOSER est ainsi amené à considérer le Typhus de l'Ancien Monde et le Typhus du Nouveau Monde ou typhus murin comme une seule entité morbide. Le passage des **Rickettsia** par l'intestin du Pou accroîtrait sa virulence pour l'Homme alors que le passage de Rat à Rat par l'intermédiaire des Puces l'atténuerait.

NICOLLE, tout en admettant une origine ancestrale commune pour les divers types de Typhus, est partisan de la thèse de l'individualité présente des types morbides.

## AUTRES FIÈVRES EXANTHÉMATIQUES A RICKETTSIA

La question de l'étiologie du Typhus exanthématique s'est compliquée encore par la découverte de nouveaux types morbides nettement différents du Typhus classique comme la fièvre tachetée ou pourprée des Montagnes Rocheuses, la fièvre boutonneuse des pays méditerranéens et diverses maladies analogues observées en différentes régions du globe.

Déjà RICKETTS avait observé la présence de petits éléments bactériens dans le sang de l'Homme et des animaux infectés avec le virus de la **fièvre tachetée des Montagnes Rocheuses** ; il constatait en outre l'existence de Tiques infectées dans la nature et le passage du virus d'une génération à l'autre. WOLBACH mit en évidence les Rickettsia dans les cellules endothéliales du Cobaye, en particulier dans les lésions peu avancées des artères et des veines, dans les testicules et leurs appendices, la peau et le tissu sous-cutané. WOLBACH réussit à transmettre la maladie à des Cobayes par Tiques mâles et femelles appartenant au genre **Dermacentor** (**D. venustus = andersoni**). Le parasite a été rangé par lui dans un genre voisin de **Rickettsia** et désigné sous le nom de **Dermacentroxenus rickettsi.**

L'infection est héréditaire chez la Tique ; le vecteur est donc aussi réservoir de virus dans la nature, au moins dans une certaine mesure. SPENCER et PARKER ont mis en mis en évidence un certain nombre de



faits très curieux : des Tiques infectées à jeun dont on inocule les viscères à des Cobayes immédiatement après les avoir capturées à la température hivernale, confèrent l'immunité ; après 24 heures de séjour à 37°, elles donnent une maladie typique mais bénigne ; nourries, elles donnent une maladie très grave. Les mêmes auteurs trouvent des Tiques non infectantes parasitées cependant par des Rickettsia identiques à celles qu'on rencontre chez les Tiques infectantes ; ces éléments parasitaires représenteraient vraisemblablement une phase non virulente du parasite de la fièvre tachetée. Il existerait également dans la Tique un stade invisible du parasite.

NOGUCHI obtint, à partir de Tiques infectées, des cultures positives d'un Bacille pléomorphique auquel il donna le nom de **Bacterium rickettsiformis** et dont les éléments ressemblent à ceux du virus de la fièvre tachetée ; la transmission héréditaire de ces microorganismes est évidente, mais l'auteur ne croit pas qu'ils doivent être considérés comme un stade non pathogène du parasite virulent.

Dans la **fièvre boutonneuse**, très commune dans les pays méditerranéens, on trouve à l'origine de la maladie une piqûre de Tique. OLMER émit l'hypothèse que la transmission du virus se fait par les Tiques et que le Chien constitue le principal réservoir de virus. DURAND et CONSEIL incriminèrent plus spécialement **Rhipicephalus sanguineus** qu'on trouve communément sur le Chien et démontrèrent expérimentalement, sur l'Homme, le rôle vecteur de cette Tique. BLANC et CAMINOPETROS ont trouvé des mâles et femelles de Tique spontanément infectées ; d'après eux, l'animal le plus sensible à la fièvre boutonneuse est le Spermophile de Macédoine (**Citillus citillus**). La fièvre exanthématique décrite sous le nom de Typhus exanthématique de la région de Marseille comme le Typhus bénin d'été observé à Rome, sont des fièvres boutonneuses typiques.

Un certain nombre de fièvres exanthématiques voisines de celles qui viennent d'être décrites, ont été signalées en diverses régions du globe. La maladie **Tsutsugamushi** ou fièvre fluviale du Japon existe au Japon et dans les Etats Malais ; elle aurait pour cause une **Rickettsia** différente de celle du typhus : **R. orientalis,** qui serait véhiculée par de petits Acariens appartenant au genre **Trombicula,** en particulier par **Tr. deliensis,** Brumpt. Les petits rongeurs et plus spécialement les Rats, constituent les principaux réservoirs de virus dans la nature (FLECHTER, LESSLAR et LEWTHWAITE). NAGAYO et ses collaborateurs

ont démontré la spécificité de la maladie en inoculant le virus dans la chambre antérieure de l'œil du Lapin : l'inoculation produit une réaction spécifique. Les Rickettsia sont facilement retrouvées dans les cellules endothéliales de la membrane de Descemet.

FLECHTER, LESSLAR et LEWTHWAITE ont distingué de la maladie Tsutsugamushi des Etats Malais un autre Typhus : le **Typhus tropical** dont il existerait deux formes : une forme urbaine W et une forme rurale K. Ces différentes maladies sont toutes causées par des Rickettsia voisines, sinon identiques, de **R. orientalis.**

Le **Typhus exanthématique de Sao Paulo** étudié par PIZA et ses collaborateurs est encore un autre type de fièvre exanthématique dont la cause a été attribuée à **Rickettsia brasiliensis** par MONTEIROS. Le parasite se retrouve facilement dans les cellules de la paroi péritonéale chez les Cobayes inoculés sous le péritoine et dans la membrane de Descemet chez les Lapins inoculés dans la chambre antérieure de l'œil. Le typhus de Sao Paulo différerait donc assez peu de la maladie Tsutsugamushi.

Il existe encore d'autres types de fièvres exanthématiques, mais il est impossible, à l'heure actuelle, de dire avec certitude si ces maladies sont effectivement des entités morbides bien définies ou si elles doivent être considérées comme des formes différentes d'un même type morbide.

## AUTRES MALADIES A RICKETTSIA

La **fièvre des tranchées** (Trench fever des Anglais) dont l'existence n'a été connue que pendant la dernière guerre, a été signalée pour la première fois en 1916, par Mc NEE, RENSHAW et BRUNT parmi les troupes britanniques combattant en France et par HIS et WERNER, en Allemagne ; la maladie a été désignée sous le nom de « Febris wolhynica » par HIS du nom de la région où elle a été observée en premier lieu et sous le nom de « Febris quintana » (fièvre des cinq jours) par WERNER. HIS trouva, dans le sang des malades, des éléments en forme de cocci ou de bâtonnets à coloration bipolaire ; les mêmes éléments peuvent être observés chez les Cobayes infectés expérimentalement ; l'auteur allemand supposa qu'ils représentaient les stades de développement d'un Protozoaire. Pour différents auteurs, la maladie serait une



Spirochétose. TÖPFER dès 1916 mit en évidence, chez les Poux de soldats malades, les mêmes éléments qu'on observe dans les Poux infectés de virus typhique. La fièvre de Wolhynie serait donc apparentée au Typhus exanthématique.

JUNGMANN et KUCZYNSKI confirmèrent les observations de TÖPFER concernant le rôle du Pou dans la propagation de la maladie et montrèrent que les éléments parasitaires se multiplient dans les cellules épithéliales de l'intestin de ces Insectes ; par injection aux Souris d'intestins de Poux infectés, ils reproduisirent la maladie typique.

D'après MUNCK et Da ROCHA LIMA, le parasite existerait dans le sang des malades longtemps après la guérison, d'où le rôle très important joué par les porteurs de virus guéris dans la propagation de la maladie.

ARKWRIGHT, BACOT et DUNCAN ont étudié sur des Poux d'élevages purs l'infection à Rickettsia transmissible à l'Homme ; ils ont montré que les éléments parasitaires doivent être identifiés avec **R. pediculi** dont l'existence a été signalée par Da ROCHA LIMA chez les Poux non typhiques (d'après cet auteur, **R. pediculi** serait étranger à la fièvre de Wolhynie) ; les éléments parasitaires n'apparaissent dans les excréments que 5 jours après le repas infectant.

D'après SIKORA, **R. pediculi** doit être distingué de **R. wolhynica (quintana)**, le vrai parasite de la fièvre de Wolhynie.

BYAM et ses collaborateurs ont montré que le parasite n'est pas inoculé par le Pou mais infecte l'organisme par les plaies superficielles après avoir été libéré de l'organisme de l'Insecte avec les excréments ou par écrasement.

La **Dengue** est une maladie extrêmement contagieuse de nature vraisemblablement rickettsienne ; cependant le virus est filtrable d'après HARRIS et DUVAL ; ces auteurs auraient réussi à cultiver le parasite sur milieu de Noguchi. L'inoculation de la culture au Cobaye détermine le tableau habituel de la Dengue expérimentale.

G. BLANC et CAMINOPETROS ont démontré que la maladie était transmissible non seulement au Cobaye, mais au Singe qui fait une infection inapparente.

Le vecteur habituel est un Moustique très commun : **Aëdes aegypti.** Les Moustiques peuvent rester infectants très longtemps, au moins 174 jours. SELLARDS et SELLER signalent la présence de Rickettsia dans l'in-

testin postérieur de Moustiques ayant transmis la Dengue d'Homme à Homme aux Iles Philippines. Les parasites se rencontrent en masses dans la lumière intestinale et en plus petit nombre dans les cellules épithéliales. Les mêmes éléments parasitaires ont été observés par MONTOUSSIS en Grèce.

**L'Hydropisie cardiaque** (« **Heartwarter** ») est une maladie très répandue dans l'Afrique du Sud qui affecte principalement les Moutons et les Chèvres et même le gros bétail ; elle a été bien étudiée par COWDRY qui a trouvé le plus souvent, dans les tissus des animaux malades, des éléments parasitaires identiques aux Rickettsia ; le parasite a été désigné par lui sous le nom de **R. ruminantium.** La maladie est propagée par les Tiques et plus particulièrement par **Amblyomma herbroeum.** Dans les Tiques, le parasite se rencontre à l'intérieur des cellules épithéliales de l'intestin et des tubes de Malpighi où il forme des amas isolés plus ou moins volumineux. En dehors des Rickettsia, on trouve normalement chez les Tiques, des formes bactériennes intracellulaires très polymorphes sans rapport avec le parasite de la maladie.

## LES RICKETTSIA NON PATHOGÈNES CHEZ LES INSECTES ET ARACHNIDES

En dehors des Rickettsia plus ou moins bien adaptées à un hôte invertébré qui peuvent se développer dans l'organisme de certains Vertébrés et causer des maladies de gravité variable, il existe d'autres microorganismes morphologiquement identiques aux Rickettsia, bien adaptés à l'hôte invertébré, mais incapables de se multiplier dans l'organisme des Vertébrés. Parmi ces derniers, on peut citer les Rickettsia de **Melophagus ovinus**, petit Diptère de teinte ferrugineuse qui vit en parasite sur le Mouton et ceux de la Punaise des lits (**Cimex lectularius**).

**R. melophagi** a été découverte en 1917 par NÖLLER qui dit avoir obtenu des cultures en milieu artificiel. JUNGMANN en 1918 aurait obtenu lui aussi des cultures sur agar glucosé au sang de cheval défibriné. Les recherches d'ANIGSTEIN en 1927 ont montré que le parasite se rencontre seulement dans les cellules sécrétrices du mésointestin de l'Insecte ; il forme aussi de véritables chaînettes dans la bordure en brosse. Comme



NÖLLER et JUNGMANN, ANIGSTEIN et HERTIG et WOLBACH ont obtenu des cultures positives à partir d'intestin de Mélophage. D'après ANIGSTEIN, les Rickettsia doivent être considérées comme de véritables Bactéries voisines des Corynébactéries.

COWDRY a montré que les Rickettsia étaient assez répandues parmi les Insectes et les Arachnides ; dans beaucoup de cas, l'infection rickettsienne est héréditaire. Le rapprochement avec l'infection bactérienne normale des Pucerons et autres Hémiptères-homoptères s'impose donc. Comme les bactéries symbiotiques, les Rickettsia sont inoffensives en général pour l'hôte ; d'autre part, elles ne se multiplient guère qu'à l'intérieur de certaines cellules vivantes. Dans certains cas cependant, elles se comportent comme des parasites vrais : ainsi **R. prowazeki** détermine chez le Pou une infection intestinale à laquelle l'Insecte succombe en trois semaines environ. **R. wolhynica (quintana)** parasite également l'intestin du Pou mais sans provoquer de désordres particulièrement graves. **R. melophagi** et **R. lectularia** au contraire ne diffèrent guère des symbiotes ordinaires.

Au point de vue de la pathologie humaine et vétérinaire, une question très importante se pose, celle de savoir si les Rickettsia sont originellement des parasites de Vertébrés adaptés ou en voie d'adaptation aux Invertébrés ou si, au contraire, ce sont des parasites d'Invertébrés susceptibles de se multiplier dans l'organisme des Vertébrés et de provoquer des lésions organiques plus ou moins graves. Dans la première hypothèse, une diminution progressive de l'extension et de la gravité des maladies à Rickettsia serait possible ; dans l'autre hypothèse, il faudrait s'attendre au contraire à voir surgir de nouvelles maladies parmi les Hommes ou les autres Vertébrés supérieurs.

En l'état actuel de nos connaissances, il est difficile de prendre parti pour l'une ou l'autre hypothèse. Selon GLASER, l'association Arthropode-Rickettsia devrait être considérée comme primitive ; la maladie n'est qu'une conséquence de celle-ci, les Arthropodes étant phyllogénétiquement plus anciens que les Vertébrés. Dans le cas du Typhus exanthématique cependant, **R. prowazeki** devait très probablement infecter primitivement les Vertébrés avant d'infecter les Poux. Dans le cas de la fièvre tachetée des Montagnes Rocheuses, il semble au contraire que le parasite infectait les Tiques avant d'infecter l'Homme.

Ces quelques considérations générales montrent l'intérêt considérable qui s'attache à l'étude systématique de l'infection chez les In-

vertébrés et plus particulièrement chez ceux qui vivent en contact plus ou moins direct avec l'Homme ou les animaux domestiques.

Article 5

## ROLE DES INSECTES DANS LA TRANSMISSION DES MALADIES A ULTRAVIRUS DES PLANTES

M.-A. Beauverie vient de publier une mise au point très complète de la question des maladies à ultravirus des plantes. Je résumerai très brièvement, d'après cette étude, l'état actuel du problème de la transmission de ces maladies par les Insectes piqueurs.

Dans la généralité des cas, le transport des germes est purement mécanique. Dans d'autres cas, au contraire, comme l'a montré Smith, le vecteur ne devient infectant qu'après une période latente plus ou moins longue, mais reste susceptible de propager la maladie le plus souvent pendant toute la durée de son existence, ce qui suppose une multiplication active du virus dans son organisme.

On connaît seulement quatre cas qui rentrent dans cette dernière catégorie : la frisolée des Betteraves, la panachure du Maïs, l'enroulement de la Pomme de terre, le jaunissement des Asters transmis respectivement par **Eutettix tenella**, Baker, **Balclutha mbila**, Naude, **Myzus persicæ**, Sulz, **Cicadula sexnotata**, Fall. Le Puceron gris du pêcher (**M. persicæ**) nourri sur pomme de terre affectée de plusieurs maladies à ultravirus ne transmet généralement que celle de l'enroulement. D'après Mc. Clintock, chez l'espèce qui transmet la mosaïque de l'Epinard, le virus serait transmissible héréditairement jusqu'à la 4e génération. On ne sait rien sur les modifications apportées par le virus à l'organisme du vecteur, ni sur l'influence de celui-ci sur l'évolution du virus. Il reste donc encore beaucoup à faire dans ce domaine.

# INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

## OUVRAGES GÉNÉRAUX

Arthus (M.). — Précis de physiologie microbienne. *Masson et Cie*, Paris, 1921.

Auerbach (M.). — Die Cnidosporidien. *Werner Klinkhardt*, Leipzig, 1910.

Le Bourdelles (B.) et Sedallian (P.). — Précis d'immunologie. *G. Doin*, Paris, 1930.

Bordet (J.). — Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses, 720 pp. Masson et Cie, Paris, 1920.

Brumpt (E.). — Précis de Parasitologie. *Masson et Cie*, Paris, (4e édition), 1927.

Buchner (P.). — Tier und Pflanze in intrazellularer Symbiose. *Gebrüder Borntraeger*, Berlin, 1921.

— Tier und Pflanze in Symbiose. *Gebrüder Borntraeger*, Berlin, 1930.

Caullery (M.). — Le parasitisme et la symbiose. *Doin et Cie*, Paris, 1922.

Doflein (F.). — Lehrbuch der Protozoenkunde. *Gustav Fischer*, Jena, 1911.

Escherich (K.). — Die Forstinsekten Mitteleuropas. 1 Bd, Chapitre IV, 3e et 4e parties, pp. 258-306, *Paul Parey*, Berlin, 1914.

Guiart. — Précis de Parasitologie, *Baillière*, Paris, 1930.

Hauduroy (P.). — Les ultravirus et les formes filtrantes des microbes. *Masson et Cie*, Paris, 1929.

Kolle (W.) et Hetsch (H.). — La Bactériologie expérimentale appliquée à l'étude des maladies infectieuses. 3e édition française d'après la 4e édition allemande par H. Carrière. *O. Doin*, Paris, et *Atar*, Genève, 1918.

PAILLOT (A.). — Les Maladies du Ver à soie, Grasserie et Dysenteries. Editions du Service photographique de l'Université de Lyon, 1928.
— Traité des maladies du Ver à soie. *G. Doin et Cie*, Paris, 1930.

PORTIER (P.). — Les symbiotes. *Masson et Cie*, Paris, 1918.

TOUMANOFF (C.). — Les maladies des Abeilles. *Vigot Frères*, Paris, 1930.

ZANDER (E.). — Krankheiten und Schädlinge der erwachsenen Bienen. *Eugen Ulmer*, Stuttgart, 1923.

## MALADIES A ULTRAVIRUS

ACQUA (C.). — Ricerche sulla malattia del giallume nel baco da seta. *Rendiconti dell'Istituto bac. del. R. Scuola super. di Agric. in Portici.* Vol. III, 1918-1919, pp. 243-256.
— La durata della virulenza dell'agente pathogeno del giallume. *Boll. del. R. Staz. sperim. di gelsicolt. e bach. di Ascoli Piceno*, Anno 1, pp. 10-12, 1922.
— Il giallume. *Boll. R. Staz. Ascoli Piceno*, Anno I, pp. 138-149, 1922.
— Il problema del giallume. *Ibidem*, Anno III, pp. 173-175, 1924.
— Si di alcune osservazioni compiute intorno alla malattia del giallume. *Ibidem*, Anno IV, pp. 113-120, 1925.
— Nuove ricerche sulla malattia del giallume (poliedria) nel baco da seta. *Ibidem*, Anno IV, pp. 189-214, 1925.
— Il virus della malattia del giallume (poliedria) nel Baco da seta in rapporto con le moderne teorie sui virus filtrabili. *Ibidem*, Anno V, pp. 87-95, 1926.
— Sull'ereditarieta della malattia del giallume (poliedria) nel Baco da seta. *Ibidem*, Anno V, pp. 45-53, 1926.
— Sull'eredita del giallume. *Ibidem*, Anno V, pp. 170-175, 1926.
— La malattia della poliedria (Giallume) nel baco da seta. Natura della malattia e modi di prevenirla. *II<sup>e</sup> Congr. Européen de la Soie*, Milan, juin 1927.

AOKI (K.) u. CHIGASAKI (Y.). — Immunisatorische Studien über die Polyederkörperchen bei Gelbsucht von Seidenraupen. *Centralbl. f. Bakter. Parasitenk. u. Infektionskrankheiten.* Bd. 86, 1921.

BÖHM (L. K.). — Ueber die Polyederkrankheit der Sphingiden. *Zool. Anz.*, t. 35, pp. 677-682, 1910.



BOLLE (G.). — Il giallume o mal del grasso. *Annali Ist. Bac. Gorizia*, 1873.
— Il giallume del baco da seta. Notizia preliminare. *Atti e mem. dell' I. R. Soc. Agr. Gorizia*, p. 193, 1894.
— Studien über das *Mikrosporidium polyedricum* der Gelbsucht. *Bericht über die Tätigkeit der K. K. Landw. Chem. Versuchsst. in Goerz*, 1902.
— Studien über die Gelbsucht der Seidenraupen. *Ibidem*, 1907.
— Verschiedene Berichte über die Polyederkrankheiten der Raupen. *Ibidem*, 1908.

CHAPMAN (J. W.) a. GLASER (R. W.). — A preliminary list of insects which have Wilt, with a comparative study of their polyhedra. *Jl. of Econom. Ent.* Vol. VIII, pp. 140-150, 1915.
— Further studies on Wilt of Gipsy Moth Caterpillars. *Ibidem*, Vol. IX, pp. 149-167, 1916.

CONTE (A.) et LEVRAT (D.). — Sur la grasserie du Ver à soie. *Assoc. française pour l'Avancement des Sciences*, pp. 529-553, 1906.

DELLA CORTE (M.). — Il giallume nella campania. *Boll. del. R. Staz. speriment. di Gelsicoltura e Bachicoltura*, Anno I, pp. 111-114, 1922.

COUTIÈRE (H.). — Choses infra-visibles. Revue. *Biologie médicale*, Vol. XVI, N<sup>os</sup> 8, 9 et 10, 1926.

ESCHERICH (K.). — Neues über Polyederkrankheit. *Naturwissensch. Zeitsch. f. Forst-u. Landwirtsch.*, II, Jahrg. 1933, pp. 86-97.

ESCHERICH (K.) u. MIYAJIMA (M.). — Studien über die Wipfelkrankheit der Nonne. *Naturwissensch. Zeitsch. f. Forst-u. Landwirtsch.*, 9. Jahrg. 1911, pp. 381-402.
— Studien über die Wipfelkrankheit der Nonne. *Biolog. Centralbl.*, Bd. XXXII, pp. 111-129, 1912.

FOA (J.) et ROSSI (G.). — Una grande speranza (Contro teoria del Guercio sul Microbio del giallume). *Italia agric. Piacenza, Gennaio*, 1927.

GLASER (R. W.). — Wilt of Gipsy-Moth caterpillars. *Jl. of Agric. research.* Vol. IV, 1915.
— The polyhedral virus of insects with a theoritical consideration of filterable viruses generally. *Science*, N. S. Vol. XLVIII, pp. 301-302, 1918.

GLASER (R. W.) a. CHAPMAN (J. W.). — The wilt disease of Gipsy Moth caterpillars. *Jl. of economic Entomology.* Vol. 6, pp. 479-488, 1913.

GLASER (R. W.) and COWDRY (E. V.). — Experiments on the visibility of the polyhedral viruses. *Journal of Experimental Medicine*, Vol. XLVII, pp. 829-834, 1928.

HAYASHI (D.). — Expériences sur la grasserie des Vers à soie. *Boll. Ass. Sér. Jap.* A. I., N° 11, 1914.

HAYASHI (D.) et SAKO. — Recherches sur la grasserie des Vers à soie. *Moniteur des soies*, Lyon, 1913, N°s 2637-2650.

HOFMANN (O.). — Die Schlaffsucht die Nonne. Insektentötende Pilze mit besonderer Berücksichtigung der Nonne. *Frankfurt-a-M.*, 1891.

KNOCHE (E.). — Nonnenstudien (Die Wipfelkrankheit und ihr Erreger). *Forstwisch. Centralbl.*, pp. 177-194, 1912.

— Ueber den Erreger der Wipfelkrankheit der Nonne und seine Entwicklung. *Jahreshefte des Vereins f. Vaterländische Naturfreunde in Württemberg.* 68. Jahrg., pp. LXXXIII-LXXXV, 1912.

KOMAREK (J.. — La lutte contre la Nonne (*Liparis monacha*). *XI<sup>e</sup> Congrès international d'agriculture*, Paris 1923.

KOMAREK (J.) u. BREINDL (V.) — Die Wipfelkrankheit der Nonne und der Erreger derselben. *Zeitschr. f. angewandte Entomologie*, Bd. X, pp. 99-162, 1924.

MARZOCCHI (V.). — Sul Parasita d. giallume. *Arch. de Parasitologie*, t. XII, pp. 456-466, 1909.

NELLO-MORI. — Di alcuni miceti isolati da larve di *Bombyx mori* affette da poliedria (giallume). *Informaz. ser.* Ann. XII, 1925.

OHMORI (J.). — Ueber die Actiologie der Gelbsucht usw. *Jl. of Silk Industry*, Tokio, 1905.

PAILLOT (A.). — Rapport sur les maladies à polyèdres. *Volume des rapports scientifiques sur les travaux entrepris en 1913 au moyen des subventions de la Caisse des recherches scientifiques*, 1914, pp. 420-425.

— Sur l'étiologie et l'épidémiologie de la grasserie du Ver à soie, *C. R. Ac. Sc.*, t. 179, p. 229, 1924.

— Sur une nouvelle maladie des chenilles de *Pieris brassicae* et sur les maladies du noyau chez les Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, t. 179, p. 1353, 1924.

— Sur les altérations cytoplasmiques et nucléaires au cours de l'évolution de la grasserie du Ver à soie. *C. R. Ac. Sc.*, t. 180, p. 1139, 1925.



PAILLOT (A.). — Sur les altérations cytologiques au cours de l'évolution de la maladie du noyau des chenilles de *P. Brassicae*. *C. R. Ac. Sc.*, t. 180, p. 1797, 1925.

— Sur la grasserie du Ver à soie. *C. R. Ac. Sc.*, t. 181, p. 306, 1925.

— Existence de la grasserie chez les papillons de Ver à soie. *C. R. Ac. Agric.*, t. XII, 1926.

— Sur l'étiologie et l'épidémiologie de la gattine du Ver à soie ou « maladie des têtes claires ». *C. R. Ac. Sc.*, t. 183, p. 251, 1926.

— Sur la flacherie du Ver à soie et ses causes. *Ibidem*, t. 183, p. 402, 1926.

— Sur la flacherie du Ver à soie. *C. R. Soc. Biol.* (*Réunion biologique de Lyon*), t. XCV, p. 1370, 1926.

— Sur une nouvelle maladie du noyau ou grasserie des chenilles de *P. Brassicae* et un nouveau groupe de microorganismes parasites. *C. R. Ac. Sc.*, t. 182, p. 180, 1926.

— Contribution à l'étude des maladies à virus filtrant chez les Insectes. Un nouveau groupe de parasites ultramicrobiens : les Borrellina. *Annales Institut Pasteur*, t. XL, p. 314, 1926.

— Sur l'anatomo-pathologie de la grasserie du Ver à soie. *C. R. Soc. de Biol.* (*Réunion biologique de Lyon*), t. XCVI, p. 550, 1927.

— Vue d'ensemble sur les affections du tube digestif du Ver à soie. Méthodes pratiques pour les éviter. *C. R. Ac. Agric.*, t. XIII, 1927.

— Sur la gattine expérimentale du Ver à soie. *C. R. Ac. Sc.*, t. 184, p. 705, 1927.

— Sur l'épidémiologie de la gattine du Ver à soie et de la flacherie vraie ou flacherie de PASTEUR. *C. R. Soc. de Biol.* (*Réunion biologique de Lyon*), t. XCVII, p. 766, 1927.

— Etude sur la grasserie et les maladies intestinales du Bombyx du mûrier. *Rapport présenté au Congrès Européen de la soie, Milan*, 1927.

— Sur la gattine amicrobienne expérimentale et sur le rôle des substances cytotoxiques intestinales dans l'épidémiologie de la gattine et de la flacherie vraie. *C. R. Ac. Sc.*, t. 187, p. 679, 1928.

— La gattine et la flacherie vraie ou flacherie de PASTEUR, maladies infectieuses mixtes à ultra-microbe et Bactéries. *C. R. Ac. Sc.*, t. 189, p. 308, 1929.

— Influence des infections microbiennes secondaires sur le développement des ultravirus chez le Bombyx du mûrier. *C. R. Soc. Biol.*, t. CIV, p. 585, 1930.

PAILLOT (A.). — La grasserie et les dysenteries du Bombyx du mûrier. *Rapports du Lab. d'études de la Soie*, Lyon, vol. XVII, pp. 105-123, 1931.

— Sur la gattine du Ver à soie. *C. R. Ac. Sc.*, t. 193, p. 211, 1931.

PANEBIANCO (R.). — Osservazione sui granuli d. giallume. *Boll. mens. di Bachicoll.* II Serie, X Jahrg., 1895.

PROWAZEK (S.). — Chlamydozoa I. Zusammenfassende Uebersicht.-Chlamydozoa II Gelbsucht der Seidenraupe. *Arch. f. Protistenkunde*, Bd. X, 1907, pp. 336-364.

— Untersuchungen über die Gelbsucht der Seidenraupen. *Centralbl. f. Bakt., Parasit. u. Infektionskk.*, Bd. LXVII, S. 268-284, 1912.

SASAKI (C.). — On the Pathology of the Jaundice of the Silkworm. *Jl. of the College of Agriculture*, vol. II, n° 2, 1910.

TAMURA (K.). — Etude sur la grasserie. *Bull. Assoc. Séric. du Japon*, n° 178, 1909.

— Sur la cause de la grasserie. *Ibidem*, n° 161, 1905.

TEODORO (G.). — E il giallume una malattia ereditaria ? *Boll. di sericoltura*, Anno XXXII, pp. 635-637, 1925.

— Ricerche sul giallume del Bombyx mori. *Bolletin. di sericoltura*, Anno XXXIII, 1926.

— Ancora sull'ereditarieta del giallume. *Bolletino di sericoltura*, Anno XXXIII, 1926.

TUBEUF (V.).— Zur Geschichte der Nonnenkrankheit. *Zeitsch. f. Forst-u. Landw.*, 1911, pp. 357-377.

VERSON (E.). — Sulla evoluzione postembrionale degli arti cefalici e toracali del filugello. *Annuar. Staz. Bacol.*, vol. XXXI, 1902.

— Il filugello e l'arte di governarlo. *Soc. Editrice Libraria, Milano*, 1917.

VERSON (E.) e GHIRLANDA (C.). — Sul microbio specifico del giallume bombicino. *Ann. d. R. Stazione bach. di Padova*, vol. XLII, 1917.

WACHTL u. KORNAUTH. — Beitrage zur Kenntnis der Morphologie, Biologie u. Pathologie der Nonne. *Mitteil. a. d. forstl. Versuchswesen Osterreichs*, 16 Heft, 1893.

WAHL (Bruno). — Ueber die Polyederkrankheit der Nonne (*Lymantria monacha*). *Centralbl. f. das gesamte Forstw.*, 35, 36, 37 et 38 Jahrg., 1909, 1910, 1911 et 1912.



WOLFF (Max.). — Uber eine neue Krankheit der Raupe von *Bupalus piniarius L. Mitteil. des Kaiser Wilhelm-Instit. f. Landw. in Bromberg*, Bd. III, 1910, pp. 69-92.

## MALADIES A PROTOZOAIRES

BALBIANI (G.). — Leçons sur les Sporozoaires. Paris, 184 pp., 1884.

BÜTSCHLI (O.). — Myxosporidien. *Zoolgisch. Jahresb.*, Bd. I, 1880.

— Beitrage zur Kenntnis der Fischpsorospermien. *Zeitsch. f. Wiss. Zool.*, vol. 35, 1881.

— Sporozoa. In : *Bronn, Klassen und Ordnungen des Tierreichs*, vol. 1, 1882.

CHATTON (E.). — Microsporidies considérées comme causes d'erreurs dans l'étude du cycle évolutif des Trypanosomides chez les Insectes. *Bull. Soc. path. exot.*, t. IV, pp. 662-664, 1911.

— Sur la systématique des Typanosomides des Insectes. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXI, p. 578, 1911.

— Position systématique et signification des Trypanosomes malpighiens des Muscides. Le genre *Rhynchoidomonas* Patton. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXIV, p. 551, 1913.

— L'ordre, la succession et l'importance relative des stades dans l'évolution des Trypanosomes chez les Insectes. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXIV, p. 1145, 1913.

— Sur la culture pure d'un *Leptomonas* de la Puce du chien et sur un caractère de ses formes culturales qui les distingue de celles du Kala-Azar de souches humaine et canine. *Bull. Soc. Pathol. exot.*, t. XII, pp. 313-316, 1919.

CHATTON (E.) et ALLILAIRE (E.). — Coexistence d'un *Leptomonas* (*Herpetomonas*) et d'un *Trypanosoma* chez un Muscide non vulnérant, *Drosophila confusa* Staeger. *C. R. Soc biol.*, t. LXIV, p. 1004, 1908.

CHATTON (E.) et LÉGER (A.). — Eutrypanosomes, *Leptomonas* et Leptotrypanosomes chez *Drosophila confusa* Staeger (Muscide). *S. R. Sos. biol.*, t. LXX, p. 34, 1911.

— Sur quelques *Leptomonas* de Muscides et leurs Leptotrypanosomes. *C. R. Soc. biol.*, t. LXX, p. 120, 1911.

— Sur l'autonomie spécifique du *Trypanosoma drosophilae*, Chatton et Allilaire, et sur les Eutrypanosomes des Muscides non sanguivores. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXI, p. 573, 1911.

CHATTON (E.) et LÉGER (A.). — Documents en faveur de la pluralité des espèces chez les Leptomonas des Drosophiles. Remarques sur leur morphologie. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXI, p. 663, 1931.

— Diversité des formes de reproduction chez les Trypanosomides des Insectes. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXII, p. 20, 1912.

CHATTON (E.) et LÉGER (M.). — Sur l'axostyle ou axoplaste des Trypanosomides des Insectes. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXI, p. 575, 1911.

— Sur un mode particulier d'agglutination et de cytolyse simulant un enkystement chez les Leptomonas des Drosophiles. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXII, p. 171, 1912.

— L'autonomie des Trypanosomides propres aux Muscides démontrée par les élevages purs indéfinis. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXIV, p. 549, 1913.

CHATTON (E.) et LÉGER (A. et M.). — Trypanosomides et membrane péritrophique chez les Drosophiles. Culture et évolution. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXII, p. 453, 1912.

— Du déterminisme des infections endotrophiques ou péritrophiques des Drosophiles par leurs Trypanosomides. Infections larvaires et imaginales. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXII, p. 550, 1912.

CHATTON (E.) et DELANOE (P.). — Observations sur l'évolution et la propagation de *Crithidia melophagi* Flu. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXII, p. 942, 1912.

— *Leptomonas pattoni* (Swingle) et *Tr. lewisi* (Kent) chez l'adulte et la larve de *Ceratophyllus fasciatus*. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXIII, p. 291, 1912.

CHATTON (E.) et ROUBAUD (E.). — Sporogonie d'une Hémogrégarine chez une Tsétsé (*Glossina palpalis* R. Desv.). *Bull. Soc. Path. exot.*, t. VI, pp. 226-233, 1913.

CHATTON (E.) et BLANC (G.). — Le Leptomonas de la Tarente dans une région indemne de Bouton d'Orient. Observations et expériences. *Bull. Soc. Path. exot.*, t. XI, pp. 595-609, 1918.

CORNALIA. — Sui caratteri presenta il seme sano dei bachi da seta e come questo si possa distinguere dal seme infecto. *Atti. Soc. Ital.*, vol. II, 1859.

DEBAISIEUX (P.). — Microsporidies parasites des larves de Simulium : *Th. Varians*. *La Cellule*, t. 30, pp. 47-79, 1919.



DEBAISIEUX (P.). — Etudes sur les Microsporidies, II. *Gl. danilewskyi*, L. Pfr., III. *Gl. mülleri*, L. Pfr. *La Cellule*, t. 30, pp. 153-183, 1919.

— Etudes sur les Microsporidies. IV. *Gl. anomala* Moniez. *La Cellule*, t. 30, pp. 217-243, 1919.

DEBAISIEUX (P.) et GASTALDI (L.). — Les Microsporidies parasites des larves de Simulium. II. *La Cellule*, t. 30, pp. 187-213, 1919.

— Hypertrophie des cellules animales parasitées par des *Cnidosporidies*. *C. R. Soc. biol.*, t. 82, p. 867, 1919.

DOFLEIN (F.). — Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. III. Uber Myxosporidien. *Zool. Jahrb. Abt. f. Anatom.*, Bd. XI, 1898.

— Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. 274 pp., Iéna, 1901.

GLASER (R. W.). — The economic status of the fungous Diseases of Insects. *Jl. of Econ. Entom.*, December 1914.

— *Herpetomonas muscae-domesticae*, its Behavior an effect in laboratory animals. *Jl. of Parasit.*, vol. VIII, pp. 99-108, 1922.

— The isolation and cultivation of *Herpetomonas muscae-domesticae*. *The Americ. Jl. of Trop. Med.*, vol. VI, pp. 205-219, 1925.

GUYÉNOT (E.) et NAVILLE (A.). — Sur un Sporozoaire de la Couleuvre vraisemblablement inoculé par un Trématode parasite. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXXIII, p. 965, 1920.

— Recherches sur le parasitisme et l'évolution d'une Microsporidie *Gl. danilewskyi* L. Pfr. *Revue Suisse de Zoologie*, t. XXX, pp. 1-61, 1922.

— *Glugea encyclometrae* n. sp. et *Gl. ghigii* n. sp. parasites de Platodes et leur développement dans l'hôte vertébré. *Rev. Suisse de Zool.*, vol. XXXI, pp. 75-115, 1924.

GUYENOT (E.) et PONSE (K.). — Une larve de Cestode parasitée par une Microsporidie. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXXVII, p. 635, 1922.

HESSE (E.). — Sur une nouvelle Microsporidie tétrasporée du genre Gurleya. *C. R. Soc. biol.*, t. 55, p. 495, 1903.

— Sur la présence de Microsporidies du genre *Thelohania* chez les Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, t. 157, p. 418, 1903.

— *Thelohania legeri* n. sp. Microsporidie nouvelle parasite des larves d'*Anopheles maculipennis* Meig. *C. R. Soc. biol.*, t. 56, p. 570, 1904.

— Sur *Myxocystis mrazeki* Hesse, Microsporidie parasite de *Limnodrilus hoffmeisteri* Clap. *C. R. Soc. biol.*, t. 57, p. 12, 1905.

HOLLANDE (A.-Ch.). — *Herpetomonas Lepto-trypanoïdes* n. sp. Flagellé à corps hélicoïdal de l'intestin d'une Mouche (*Dioctria rufipes* Meig.). *Arch. Zool. exp. et gén.*, t. 61, p. 29, 1922.

KRASSILSTSCHIK. — Ueber neue Sporozoen bei Insekten. *Archiv. f. Protistenkunde*, Bd. XI, 1908.

KUDO (R.). — On the Structure of some Microsporidian Spores. *Jl. of Parasit.*, vol. VI, pp. 178-182, 1920.

— On the nature of structures characteristic of Cnidosporidian spores. *Trans. of the Amer. Microsc. Soc.*, vol. XL, pp. 59-74, 1921.

— Studies on Microsporidia, with special reference to those parasitic in Mosquitoes. *Jl. of Morph.*, vol. 35, pp. 153-182, 5 pl., 1921.

— A biologic and taxonomic study of the Microsporidia. *Illinois biol. Monographs*, vol. IX, 268 pp., 27 pl., 1924 (Bibliographie sur les Microsporidies jusqu'à cette date).

LAVERAN (A.) et FRANCHINI (G.). — Au sujet d'un Herpétomonas de *Ctenopsylla musculi* et de sa culture. *Bull. Soc. Path. exot.*, t. VIII, p. 266, 1915.

LÉGER (L.). — Sur une nouvelle Myxosporidie de la famille des *Glugeidés*. *C. R. Acad. Sc.*, t. CXXV, p. 260, 1897.

— Sur la structure et le mode de multiplication des Flagellés du genre *Herpetomonas*, Kent. *C. R. Ac. Sc.*, t. 134, p. 781, 1902.

— Les Schyzogrégarines des Trachéates. *Arch. f. Protist.*, Bd. 8, pp. 159-202, 8 pl., 1907.

— Les Schyzogrégarines des Trachéates. 2. Le genre Schizocystis. *Arch. f. Protist.*, Bd. 18, p 83, 1909.

LÉGER (L.) et DUBOSCQ (O.). — Les Grégarines de l'épithélium intestinal chez les Trachéates. *Arch. Parasit.*, t. VI, n° 3, 1902.

— Nouvelles recherches sur les Grégarines et l'épithélimu intestinal des Trachéates. *Arch. f. Protist.*, Bd. IV, pp. 335-383, 1904.

— Etudes sur la sexualité chez les Grégarines. *Arch. f. Protist.*, Bd. 17, pp. 69-134, 1909.

— *Perezia lankesteriae* n. g., n. sp., Microsporidie parasite de *Lankesteria ascidiae* (Ray-Lank.). *Arch. Zool. exp. et gén.*, (5), t. I, Notes et Revue, pp. LXXXIX à XCIV, 1909.

— Protistes parasites de l'intestin d'une larve de *Ptychoptera* et leur action sur l'hôte. *Bull. cl. Sc. Acad. roy. Belg.*, t. 8, pp. 885-902, 1909.



LÉGER (L.) et HESSE (E.). — Mrazekia, genre nouveau de Microsporidies à spores tubuleuses. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXIX, p. 345, 1916.

— Structure de la spore des Microsporidies. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXIX, p. 1049, 1916.

— Microsporidies à spores sphériques. *C. R. Ac. Sc.*, t. 173, p. 1419, 1921.

— Microsporidies bactériformes et essai de systématique du groupe. *C. R. Ac. Sc.*, t. 174, p. 327, 1922.

LWOFF (M. et A.). — L'appareil parabasal et les constituants cytoplasmiques de *Leptomonas ctenocephali* Fanth. var. *chattoni* Lav. et Franchini (Flagellé trypanosomide). *C. R. Soc. biol.*, t. C, p. 557, 1929.

MERCIER (L.). — Néoplasie du tissu adipeux chez les Blattes parasitées par une Microsporidie. *Archiv. f. Prostistenkunde*, Bd. II, 1898.

— Sur le développement et la structure des spores de *Th. giardi*, Henn. *C. R. Ac. Sc.*, t. 146, p. 34, 1908.

— Contribution à l'étude de la sexualité chez les Myxosporidies et les Microsporidies. *Mém. cl. Sc. Ac. roy. Belg.*, t. II, 1909.

MÜHL (D.). — Beitrag zur Kenntnis der Morphologie u. Physiologie der Mehlwurmgregarinen. *Arch. f. Protist.*, Bd. 43, pp. 365-414, 1921.

NÖLLER (W.). — Blut-und Insektenflagellatenzüchtung auf Platten. *Arch. f. Schiffs. u. Trop. Hyg.*, t. XXI, pp. 53-94, 1917.

OHMORI (J.).— Zur Kenntnis des Pebrine-Erreger *N. bombycis* Nägeli. *Arb. kais. Gesundh.*, Bd. XL. pp. 108-122, 1912.

PAILLOT (A.). — Deux Microsporidies nouvelles, parasites des chenilles de *Pieris brassicae*. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXX, p. 66, 1918.

— *Perezia legeri* n. sp., Microsporidie nouvelle parasite des chenilles de *Pieris brassicae*. *C. R. Soc. biol.*, t. LXXXI, p. 187, 1919.

— Sur une nouvelle flagellose d'Insecte et un processus d'infestation naturelle non encore décrit. *C. R. Ac. Sc.*, t. 177, p. 463, 1923.

— Sur la transmission des maladies à Microsporidies chez les Insectes. *C. R. Soc. biol.*, t. XC, p. 504, 1924.

— Sur *Perezia pieris*, Microsporidie nouvelle parasite de *Pieris brassicae*, *C. R. Soc. biol.*, t. XC, p. 1255,1924.

— Sur *Thelohania mesnili*, Microsporidie nouvelle parasite des chenilles de *P. brassicae*. *C. R. Soc. biol.*, t. XC, p. 501, 1924.

— Sur deux Protozoaires nouveaux parasites des chenilles de *Pyrausta nubilalis*. *C. R. Ac. Sc.*, t. 185, p. 673, 1927.

PAILLOT (A.). — On the natural equilibrium of *Pyrausta nubilalis*. *Intern. Corn bor. Invest., Scient. Rep.*, vol. 1, pp. 77-106, 1928.

— Sur le cycle évolutif de *Nosema bombycis* parasite de la pébrine du Ver à soie. *C. R. Soc. biol.*, t. 99, p. 81, 1928.

— Contribution à l'étude des Microsporidies parasites de *P. brassicae L. Arch. Anat. micr.*, t. XXV, pp. 212-230, 1929.

PASTEUR (L.). — Etude sur la maladie des Vers à Soie, Paris, 1 vol. 1870.

PEREZ (Ch.). — Microsporidies parasites des Crabes d'Arcachon. *Bull. Station biol. d'Arcachon*, 1904-1905.

— Sur *Duboscquia legeri*, Microsporidie nouvelle parasite du *Termes lucifugus* et sur la classification des Microsporidies. *C. R. Soc. biol.* t. 65, p. 631, 1908.

— Une invasion de chenilles spontanément enrayée par un Sporozoaire. (Analyse du travail de Krassilstschik). *Bulletin de la Société d'étude et de vulgarisation de Bordeaux*, 1er décembre 1908.

PFEIFFER (R.). — Beitrage zur Kenntnis des pathogenen Gregarinen. I. Die Microsporidien u. Fleckenkrankheit (Pébrine) des Seidenspinners. *Zeit. f. Hygiène*, Bd. 111, 1887.

— Die Protozoen als Krankheitserreger. 1 Aufl. 1890, 2 Aufl. 1891.

— Die Protozoen als Krankheitserreger (Nachträge) Iéna, 1895.

— Zur Verbreitung der Glugea (Microsporidien), *Tierreich. Corresp. Bl. d. allgemeine ärzt. Vereins v. Thüringen*, Weimar, Bd. XXIV, 1895.

PROWAZEK (S.). — Die Entwicklung von Herpetomonas, einem mit Trypanosomen verwandten Flagellaten. *Arb. aus dem kais. Gesundh.*, t. 20, p. 440, 1904.

SCHEWIAKOFF (W.). — Ueber die Ursache der fortschreitenden Bewegung der Gregarinen. *Zeitsch. f. viss. Zool.*, Bd 58, p. 340, 1894.

SCHUBERG (A.). — Ueber Microsporidien aus dem Hoden der Barbe und durch sie verursachte Hypertrophie der Kerne. *Arb. kais. Gesundh.*, Bd. XXXIII, pp. 401-434, 1910.

SCHWARZ (I.). — Untersuchungen an Mikrosporidien minierender Schmetterlingsraupen, den « Symbionten » Portiers. *Zeitsch. f. Morph. u.ökol. der Tiere*, Bd. 13, pp. 665-705, 1929.

STEMPELL (W.). — Ueber *Thelohania mülleri*. *Zool. Anz. Jahrb.* (Anat.) Bd. LXXVI, 1902.



STEMPELL (W.). — Ueber die Fortpflanzung der Protozoen. *Mitt. d. naturw. Vereins f. Neupommern u. Rügen*, Jahrg. 34, 1904.

— Ueber *Nosema anomala* Moniez. *Arch. f. Protist.*, Bd. IV, pp. 1-42, 1904.

— Ueber *Nosema bombycis* Nägeli. *Arch. f. Protist.*, Bd. XVI, pp. 281-358, 1909.

VANEY (C.) et CONTE (A.). — Sur une nouvelle Microsporidie, *Plistophora mirandellae*, parasite de l'ovaire *d'Alburnus mirandella*. *C. R. Acad. Sc.* t. CXXXIII, p. 644, 1901.

ZANDER (E.). — Handbuch der Bienenkunde. II. Krankheiten und Schädlinge der erwachsenen Bienen. Stuttgart, (Ulmer) 1911.

ZOTTA (G.). — Sur un Flagellé du type Herpetomonas chez *Pyrrhocoris apterus*. *Ann. scient. Univ. Jassy*, t. 7, pp. 210-223, 1912.

— Sur la culture en milieu NNN du *Leptomonas pyrrhocoris*. *C. R. Soc. biol.*, t. 84, p. 822,1921.

— Sur la transmission expérimentale du *Leptomonas pyrrhocoris* Z. chez les Insectes divers. *C. R. Soc. biol.*, t 85, p. 135, 1921.

— Un Leptomonas du type *L. davidi* Laf. chez les Euphorbes de France *C. R. Soc. biol.* t. 85, p. 226, 1921.

— A propos de l'action favorisante du sang sur le développement du *Leptomonas pyrrhocoris* dans le bouillon glucosé. *C. R. Soc. biol.*, t. 88, p. 963, 1923.

— Emploi de la substance cérébrale comme milieu de culture pour le *Leptomonas pyrrhocoris*. *C. R. Soc. biol.*, t. 88, p. 281, 1923.

— Culture du *Leptomonas pyrrhocoris* en milieu d'organes stérilisés. *C. R. Soc. biol.*, t. 88, p. 283, 1923.

— *Leptomonas familiaris*, n. sp. parasite du tube digestif de *Ligæus familiaris* en Roumanie. *C. R. Soc. biol.*, t. 88, p. 285, 1923.

## MYCOSES

ARNAUD (G.) et ARNAUD (M.). — La lutte contre les Insectes par les Champignons entomophytes. *C. R. Ac. Agr.*, t. IX, p. 863, 1923.

ARNAUD (M.). — Recherches préliminaires sur les Champignons entomophytes. *Ann. Serv. Epiph.*, t. XIII, pp. 1-30, 1927.

AUDOUIN (V.). — Recherches anatomiques et physiologiques sur la maladie contagieuse qui attaque les Vers à soie et qu'on désigne sous

le nom de muscardine. *Ann. Sc. natur. Zool.*, Série 2, t. 8, pp. 229-245, 1837.

BAIL. — Ueber Krankheit der Insekten durch Pilze. *Verhandlung. der 35 Naturfursch. Versam. in Königsberg Botan.* 1860.

— Ueber Pilzepizootien der fortsverheerenden Raupen. *Schrift. d. Natur. Gesellsch. zu Dantzig*, n. série II. 1867.

— Pilzepidemie an der Forleule, *Noctua piniperda* L. *Danckelm. Zeitsch. f. Forst-u. Jagdw.* Bd. I, pp. 243-247, 1869.

BARTOLOMEO (M.). — Parasitismus und Vermehrungsformen von *Empusa elegans n. sp. Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 40, II, Abt., 1914.

DE BARY (A.). — Zur Kenntnis insektentötender Pilze. *Botan. Zeit.* Bd. 25, pp. 1-7, 9-13, 17-21, 1867 et Bd. 27, pp. 585-593, 602-606, 1869.

BEAUVERIE (J.). — Sur une Muscardine du Ver à Soie non produite par *Botrytis bassiana*. Etude du *B. effusa*, nov. sp. *Rapports du Laboratoire d'étude de la Soie*, Lyon, t. XIV, 1911.

— Les Muscardines. *Revue générale de Botanique*, t. XXVI, pp. 81-157, 1914.

BILLINGS (F.-H.) and GLENN (P. A.). — Results of the artificial use of the White Fungus disease in Kansas. *U. S. Depart. of Agriculture, Bull.* N° 107 (Bibliographie très complète sur l'emploi des champignons dans la lutte contre *Blissus leucopterus*). 1911.

BREFELD (O.). — Entwicklungsgeschichte der *Empusa muscae* und *Empusa radicans*. *Abhdlg. d. Naturf. Gesell. zu Halle*, Bd. II, pp. 1-50, 1871.

BRONGNIART (Ch.). — Les Entomophthorées et leur application à la destruction des Insectes nuisibles. *C. R. Acad. Sc.*, t. CVII, p. 872, 1888.

— Les Champignons parasites observés sur les Criquets pèlerins en Algérie. *Société nationale d'Agriculture de France*, 1891.

BRONGNIARD (Ch.) et CORNU (M.). — Observations nouvelles sur les épidémies sévissant sur les Insectes. *Association française pour l'avancement des Sciences, Congrès de Montpellier* 1879.

— Epidémie causée sur les Diptères du genre *Syrphus* par un champignon *Entomophthora*. *C. R. Acad. Sc.*, t. XC, p. 249, 1880.

BUCHANAM (R.-M.). — *Empusa muscae* as a carrier of Bacterial infection from the House Fly. *The Brit. med. Jl.*, Vol. 2, p. 1369, 1913.

CHORINE (V.) et BARANOFF (N.). — Sur deux Champignons d'*Anopheles maculipennis*, Mg., *C. R. Soc. Biol.*, t. CI, p. 1025, 1929.



CONTE (A.) et LEVRAT (D.). — Les Maladies du Ver à Soie. La Muscardine. *Rapports du Laboratoire d'études de la Soie*. Lyon, vol. XIII, 1907.

CORNU (M.) et BRONGNIART (Ch.). — Champignon observé sur un Insecte. Du rôle des Champignons dans la nature. *Association française pour l'Avancement des Sciences, Congrès d'Alger*, 1881.

— Sur des Pucerons attaqués par un Champignon. *C. R. Acad. Sc.*, t. XCII, p. 910, 1881.

DANYSZ (J.). — Maladies contagieuses des animaux nuisibles. Leurs applications en Agriculture. Paris 1895.

DANYSZ (J.) et WIZE (K.). — De l'utilisation des Muscardines dans la lutte contre le *Cleonus punctiventris*. Paris, 1901.

DEBRAY (F.). — Le Champignon des Altises. *Revue de Viticulture*, N° 227 p. 482, 1898.

DELACROIX (G.). — Le Hanneton et sa larve. Les moyens empiriques de destruction. La moisissure parasite. *Journal d'agriculture pratique*, N°s des 23 et 30 juillet, 6 et 13 août 1891.

DIEUZEIDE (R.). — Les Champignons entomophytes du genre *Beauveria* Vuil. Contribution à l'étude de *Beauveria effusa* Vuill. parasite du Doryphore. *Ann. des Epiph.*, t, II, pp. 185-219, 1925.

DUFOUR (J.). — Note sur le *Botrytis tenella* et son emploi pour la destruction des Vers blancs. *Bull. Soc. Vaudoise Sc. Nat.*, t. XXVIII, p. 106, 1891.

— Le Champignon parasite des Vers blancs. *Chronique agricole du canton de Vaud*, 10 août 1892.

FEYTAUD (J.). — Recherches sur la Cochylis et l'Eudémis dans le Bordelais en 1912. *Annales des Epiphyties*, t. I, p. 253-330, 1914.

— Recherches sur l'Eudémis et la Cochylis. *An. Serv. Epiph.*, t. II, p. 224, 1915.

FORBES (S. A.). — Experiments with the Muscardine disease of the Chinch bug and with the Trap and Barrier Methode for the destruction of that Insect. *University of Illinois. Agricultural experiment Station Urbana.*, Bull. N° 38, 1895.

FRON (G.). — Notes sur quelques Mucédinées observées sur *Cochylis ambiguella*. *Bull. Soc. Mycol.*, t. XXVII, 1911.

— Sur une Mucédinée de la Cochylis. *Bull. Soc. Mycol.*, t. XXVIII, 1912.

— Recherches sur les Parasites végétaux de la Cochylis et de l'Eudémis. *Annales des Epiphyties*, t. I, pp. 372-378, 1914.

GIARD (A.). — Deux espèces d'Entomophthorées nouvelles pour la flore française et présence de la forme *Tarichium* sur un Muscide. *Bull. Scient. Fr. et Belg.*, t. XI, 1879.

— Note sur les Syrphes et Entomophthorées relative à l'application possible de la culture de certains Champignons inférieurs à la destruction des Insectes nuisibles et en particulier du Phylloxera. *C. R. Ac. Sc.*, t. XC, p. 504, 1880.

— Fragments biologiques. Syrphes et Entomophthorées. *Bull. Scient. Fr. et Belg.*, t. XII, p. 353, 1880.

— Sur quelques Entomophthorées. *Bull. Scient. Fr. et Belg.*, t. XIX, p. 298, 1888.

— Note sur deux types remarquables d'Entomophthorées, *Empusa fresenii*, Now. et *Basidiobolus ranarum*, Eid., suivie de la description de quelques espèces nouvelles. *C. R. Soc. Biol.*, t. XL, p. 783, 1888.

— Note sur *Sorosporella agrotidis* Sorokin. *Bull. Scient. Fr. et Belg.*, t. XX, p. 81, 1889.

— De insectorum morbis qui fungis parasitis efficientur par J. Krassilstschick (Analyse critique). *Bull. Scient. Fr. et Belg.*, t. XX, p. 180, 1889.

— Sur quelques types remarquables de Champignons entomophytes. *Bull. Scient. Fr. et Belg.*, t. XX, p. 197, 1889.

— Sur une Isaria parasite du Ver blanc. *C. R. Soc. Biol.*, t. XLIII, p. 236, 1891.

— Observations et expériences sur les Champignons parasites de l'*Acridiorum peregrinum*. *C. R. Soc. Biol.*, t. XLIII, p. 493, 1891.

— Sur la transmission de l'Isaria du Ver blanc au Ver à soie. *C. R. Soc. Biol.*, t. XLIII, p. 507, 1891.

— Sur les Cladosporiées entomophytes, nouveau groupe de Champignons parasites des Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, t. CXII, p. 1518, 1891.

— Nouvelles recherches sur le Champignon parasite du Hanneton vulgaire (*Isaria densa* Link). *C. R. Soc. Biol.*, t. XLIII, p. 575, 1891.

— Sur l'*Isaria densa* Link., parasite du Ver blanc. *C. R. Ac. Sc.*, t. CXIII, p. 269, 1891.

— Le Criquet pèlerin (*Schistocerca peregrina* Ol.) et son Cryptogame parasite, *Lachnidium acridiorum*. *C. R. Soc. Biol.*, t. XLIV, p. 2, 1892.

— L'*Isaria densa* (Link) Fries, Champignon parasite du Hanneton commun (*Melolontha vulgaris* L.). *Bull. Scient. Fr. et Belg.*, t. XXIV, 1892.



GIARD (A.). — Nouvelles études sur le *Lachnidium acridiorum*. *L'Algérie agricole*, XXV^e^ année, 1893.

— A propos de l'*Isaria densa*. *Jl Agric. pratique*, p. 679, 1893.

— Sur les formes agrégées de divers Hyphomycètes entomophytes. *C. R. Soc. biol.*, t. XLVI, p. 592, 1894.

— Sur l'*Isaria barberi*, parasite de *Diatraea saccharalis* Fab., et sur les maladies de la Canne à sucre aux Antilles. *C. R. Soc. Biol.*, t. XLVI, p. 823, 1894.

— Une nouvelle espèce d'Entomophyte, *Cordiceps hunti*, parasite d'une larve d'Elatéride. *Bull. Soc. Entom. Fr.*, t. LXIV, p. CLXXXI, 1895.

— Le parasite de l'Ecaille martre. *Rev. de Viticult.*, p. 453, 1896.

GLASER (R. W.). — The green Muscardine Disease in Silkworms and its control. *Ann. of the Entom. Soc. of America*, vol. XIX, pp. 180-188, 1926.

GRAY (R. G.). — Notices of Insects that are known to form the Bases of Fungoid Parasites. *London privately printed*, 1858.

HAGEN (H.-A.). — Destruction of obnoxious Insects (Phylloxera, Potato beetle, Cotton Worm, etc...) by application of the Yeast Fungus, Cambridge, 1879.

HERGULA (B.). — On the application of *Metarrhizium anisopliae* against *Pyrausta nubilalis*. *Intern. Corn Borer Investigations. Scient. Rep.*, vol. III, pp. 130-141, 1930.

HESSE (E.). — *English Mechanic and World of Sc.*, 12 juillet 1912 (Note sur résultats positifs obtenus dans la culture d'*Empusa muscae* sur milieu artificiel).

— Parasitic Mould of the House fly. *Brit. Medic. Journ.*, 4 th. jan., p. 41, 1913.

HOFMANN. — Insektentötende Pilze mit besonderer Berucksichtigung der Nonne. *Frankfurt*, 1891.

HOWARD (L. O.). — Experimental work with fungous diseases of Grasshopers. *Yearbook of Depart. of Agriculture*, 1901.

JABLONOWSKI. — Védékezés a szölömoly ellen méreg nélkül (Sur la destruction des Vers de la Vigne sans poisons). *Termézettudomanyi Kozlony* 554 *fuzétébol*, 1913.

KRASSILSTSCHIK (J.) — La production industrielle des parasites végétaux pour la destruction des insectes nuisibles. *Rev. Gén. d'Agric. et de Vitic. méridionale*, 5 juin 1888.

KRASSILSTSCHIK (J.). — De insectorum morbis, qui fungis parasitis efficientur. *Bulletin de la Socété des Naturalistes de la Nouvelle Russie*, t. XI, 1886. (Analyse critique en français par Giard, *Bull. scient. de France et de Belgique*, t. XXII, 1889).

— La lutte contre les Insectes nuisibles à l'aide de leurs parasites. *Progrès agricole et viticole*, 1896.

LAKON (G.). — Zur Systematik des Entomophtoreengatung Tarichium. *Zeitsch. Pflanzenkrank.*, *Bd.* 25, pp. 257-272, 1915.

LEBERT (S.). — Ueber die Pilzkrankheit der Fliegen nebst Bemerkungen über andere pflanzlich, parasitische Krankheiten der Insekten. *Nouveaux mémoires de la Société helvétique des Sciences naturelles*, 1856.

LOHDE (G.). — Insektenepidemien welche durch Pilze hervorgerufen werden. *Berlin. entom. Zeitschr.*, 1872.

MIRANDE (N.). — Contribution à la biologie des Entomophytes. *Revue générale de botanique*, 1908.

MORRILL (A.-W.) and BACK (E.-A.). — Natural Control of white Flies in Florida. *U. S. Depart. Agriculture, Bureau of Entomologie.* Bull. N° 102, 1912.

LE MOULT (L.). — Le parasite du Hanneton. *C. R. Ac. Sc.*, t. CXII, p. 1081, 1891.

— Sur la destruction de certains Hémiptères par les parasites végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, t. 155, p. 656, 1912.

— De la destruction des Insectes nuisibles par les parasites végétaux. Bourges, 1912.

OLSEN SOPP (O.-J.). — Untersuchungen über Insektenvertilgende Pilze bei der letzen Kiefernspinnerepidemien in Norwegen. *Christiania*, 1911.

OLIVE (E.). — Cytological studies on the Entomophthoreae. *The botanical Gazette*, t. XII, pp. 192-208 (Analyse dans le *Bulletin de l'Institut Pasteur*, par PINOY), année 1906.

PAILLOT (A.). — Observations sur la Cochylis et l'Eudémis en Bourgogne pendant l'année 1912. *Annales des Epiphties*, t. I, pp. 339-351, 1914.

— Pathogénie de la muscardine du Ver à soie. *C. R. Soc. biol.*, t. 100, p. 353, 1929.

— Les microorganismes parasites des Insectes. Leur emploi en Agriculture. *Ann. des Epiphyties*, t. 2, pp. 188-232, 1916.



PICARD (F.). — Contribution à l'étude des Laboulbéniacées d'Europe et du nord de l'Afrique. *Bull. Soc. Mycol. de France*, t. XXIX, 69 pp., 4 pl., 1913.

PICARD (F.). — Les Champignons parasites des Insectes et leur utilisation agricole. *Annales de l'Ecole nationale d'Agriculture de Montpellier*, pp. 119-248, 1914.

— La Teigne de la Pomme de terre. *Annales des Epiphyties*, t. I, pp. 106-176, 1914.

PLAUT (H. C.). — Die Hyphenpilze oder Eumyceten. *Handbuch der pathogenen Microorganismen* (Prof. Kolle u. Prof. Wassermann), Bd. I, *G. Fischer*, Iéna, 1903.

PRILLIEUX (E.) et DELACROIX (G.). — Le Champignon parasite de la larve du Hanneton. *C. R. Ac. Sc.*, t. CXII, p. 1079, 1891.

ROBIN (Ch.). — Histoire naturelle des végétaux parasites qui croissent sur l'homme et les animaux. *Paris*, 1853.

ROUBAUD (E.). — Etude sur les Stomoxydes du Dahomey. *Bull. Soc. Pathol. exotique*, 8 février 1911.

SAUVAGEAU (C.) et PERRAUD. — Sur un Champignon parasite de la Cochylis. *C. R. Acad. Sc.*, 17 juillet 1893.

SCHWANGART (Fr.). — Zur Bekämpfung des Traubenwicklers im Jahre 1908, *Mitt. d. deutsch. Weinbauvereins*, R. Theyer, Mainz, 1909.

— Ueber die Traubenwickler und ihre Bekämpfung mit Berücksichtigung naturl. Bekämpfungsfactoren. *Fischer*, Iéna, 1910.

— Ueber Seidenraupenzucht, Raupenkrankheiten und Schädlingsbekämpfung. *Zeitschr. f. Wissenchaftl. Insektenbiologie*, 1911 et 1912 (Sammelreferat den Jahren, 1906-1910 incl.).

— Neuere Erfahrungen mit der Bekämpfung der Traubenwickler. Referat in der Generalversammlungen des deutschen Weimbauvereins in Würzburg, 1911, in *Mitt. d. deutsch. Weinbauvereins* u. als Broschure bei *D. Meininger*, Neustadt. a. d. H., 1912.

— Das Traubenwickler. Problem u. das Programm der angewandten Zoologie, in *Mitt. d. Deutsch. Weinbauvereins*, 1913.

— Ueber die Traubenwickler und ihre Bekämpfung mit Berücksichtigung natürlicher Bekämpfungsfaktoren (IIe partie), *Fischer*, Iéna, 1933.

GRAHAM, SMITH, NICOLL, COPEMAN, etc. — Flies and infection. C. R. des Rapports du Local Govern. Board. *The Brit. med. Jl.*, vol. 2, 1911.

SOROKIN (N.). — Un nouveau parasite de la chenille de la Betterave, *Sorosporella agrotidis* (gen. et sp. nov.). *Bull. Sc. Fr. et Belg.*, t. IV, pp. 676-681, 1889.

SPEARE (A. T.) and COLLEY (R. H.). — The artificial use of the Brown Tail fungus in Massachussets, Boston, 1912.

SPEARE (A. T.). — *Sorosporella uvella* and its occurence in cutworms in America. Preliminary paper. *Jl. Agr. Res.*, t. 8, pp. 189-194, 1917.

— Further Studies of *Sorosporella uvella*, fungous parasite of noctuid larvae. *Jl. of Agr. Res.*, vol. XVIII, pp. 399-439, 1920.

THAXTER (R.). — The Entomophthoreae of the United Stades. *Mem. Boston Soc. Nat. Hist.*, vol. 4, pp. 133-201, 1888.

TRABUT (L.). — La destruction des Altises en hiver (*Sporotrichum globuliferum*). *Bull. Agric. de l'Algérie et de la Tunisie*, 15 octobre 1897.

— Destruction de l'Altise de la Vigne par un Champignon parasite (*Sporotrichum globuliferum* ou *Isaria globulifera*). *Bull. du Gouvernement général de l'Algérie*, Service de botanique, 1898.

TUBEUF (K. von). —*Empusa aulicae* Reich. und die durch diesen Pilz verursachte Krankheit der Kieferneulenraupen. *Forstl. naturwiss. Zeitschr.*, t. II, 1893.

— Beendigung von Raupen Epidemien durch *Empusa. Forstl. naturwiss. Zeitschr.*, p. 474, 1897.

TULASNE (L. R.). — Note sur les *Isaria* et *Sphaeria* entomogènes. *Annales des Sciences naturelles*, 4e série, t. VIII, p. 35, 1857.

— Selecta fungorum carpologia. T. III, Paris, 1861-1865.

VANEY (C.) et CONTE (A.). — Utilisation des Champignons entomophytes pour la destruction des larves d'Altises. *C. R. Acad. Sc.*, t. CXXXVIII, p. 159, 1904.

VINCENS (F.). — Sur la muscardine du ver blanc. *C. R. Ac. Sc.*, t. CXIII, p. 158, 1891.

— Observations sur quelques formes *Botrytis* parasites des insectes. *Bull. Soc. mycol. de France*, t. IX, pp. 177-185, 1893.

— Travaux du Laboratoire de pathologie végétale (voir : *Oospora destructor*, Champignon produisant la muscardine verte (pl. XIV, fig. 2) et *Isaria dubia* (pl. XIV, fig. 1). *Bull. Soc. mycol. de France*, t. IX, p. 260, 1893.

— Recherches sur le parasitisme de quelques champignons entomophytes sur *Bombyx mori. Soc. Hist. Nat. de Toulouse*, t. XLV, 1912.

VOUKASSOVITCH (P.). — Contribution à l'étude d'un Champignon entomophyte. *Spicaria farinosa* (Fries) var. *verticilloides*, Fron. *Ann. Serv. Epiph.*, t. XI, pp. 73-120, 1925.



VUILLEMIN (P.). — Les *Isaria* du genre *Penicillium. Bull. Soc. mycol. de France*, t. XX, pp. 214-222, 1904.

— Matériaux pour une classification rationnelle des *Fungi imperfecti. C. R. Ac. Sc.*, t. CL, p. 882, 1910.

— Les Conidiosporés. *Bull. Soc. des sciences de Nancy*, 2 juin 1910.

— *Beauveria*, nouveau genre de Verticilliacées. *Bull. Soc. bot. de France*, t. LVIII, IVe série, t. XI, pp. 34-40, 1911.

VUILLET (A.). — *Entomophthora aulicae* contre *Liparis chrysorrhoea. Bull. Soc. Sc. et méd. de l'Ouest.* Séance du 8 nov. 1912.

WALLENGREN (Hans). — On the infection of *Pyrausta nubilalis* Hb. by *Metarrhizium anisopliae* (Metch.) Sor. II. *Intern. Corn Bor. Invest. Sc. Rep.*, vol. III, pp. 64-73, 1930.

WALLENGREN (H.) et JOHANSSON (R.). — On the Infection of *Pyrausta nubilalis* Hb. by *Metarrhizium anisopliae.* (Metch.) Sor. *Intern. Corn Bor. Invest. Scient. Rep.*, vol. II, p. 131, 1929.

WEBSTER (F.-M.). — Vegetal parasitism among Insects. *Journal Columbus Horticul. Society*, April 1894.

ZOPF. — Die Pilze in morphologischer, physiologischer, biologischer und systematischer Beziehung. *Breslau Trewendt.*, 1890.

## MORPHOLOGIE DES BACTÉRIES

ALEXEIEFF (A.). — Sur la question du noyau chez les Bactéries. (Contribution à l'étude des mitochondries et des grains métachromatiques). *Arch. f. Protist.*, t. XLIX, pp. 396-432, 1924.

AMATO (A.). — Ueber die feine Struktur der Bakterien. *Centbl. f. Bakt.*, Bd. XLVIII, I Abt. Orig., pp. 385-393, 1908.

AMBROZ (A.). — Entwickelungszyklus des *B. nitri* sp. n. Beitrag zur Cytologie der Bakterien. *Centbl. f. Bakt.*, LI, I Abt. Or., pp. 193-216, 1909, 12 pl.

DOBELL (C.). — Contribution to the Cytology of the Bacteria. *The Quarterly Jl. of Micr. Sc.*, LVI, pp. 395-506, 1911.

GUILLIERMOND (A.). — La Cytologie des Bactéries. Revue. *Bull. Inst. Past.*, Paris, pp. 273-283 et 321-331, 1907. (Bibliographie, jusqu'à cette date, des travaux relatifs à la structure des bactéries).

GUILLIERMOND (A.). — Sur la structure des Bactéries. *C. R. Ac. Sc.*, t. 194, p. 2322, 1932.

— Observations cytologiques sur les Rhodothiobactéries. *C. R. Ac. Sc.*, t. 194, 1259, 1932.

HOLLANDE (A. Ch.) et HOLLANDE (G.). — Etudes cytologiques de quelques microbes pathogènes pour l'Homme. *Bacterium typhi* Eberth. *C. R. Soc. Biol.*, t. CVII, p. 205, 1931.

— Cytologie du *Bacillus anthracis* (Davaine, Koch). *C. R. Soc. Biol.*, t. CVIII, p. 731, 1931.

— Etude cytologique des différents stades du Bacille d'Eberth (*Bact. Typhi* Eb.). Etat figuré du virus filtrant. *C. R. Ac. Sc.*, t. 192, p. 1585, 1931.

— La structure cytologique du Bacille tuberculeux humain. Cycle évolutif du *Mycobacterium tuberculosis* (Lehmann et Neumann). *C. R. Ac. Sc.*, t. 193, p. 790, 1931.

— Cytologie du Colibacille. *Bact. coli* Esch. *C. R. Ac. Sc.*, t. 193, p. 1353, 1931.

PAILLOT (A.). — Sur le polymorphisme des Bactéries. *C. R. Acad. Sc.*, Paris, 170, p. 904, 1920.

PENAU (H.). — Contribution à la cytologie de quelques microorganismes Thèse, Paris, 1911. (Bibliographie sur la structure des Bactéries).

PETIT (A.). — Sur la Cytologie de deux Bactéries. *C. R. Acad. Sc.*, Paris, 173, p. 1480, 1921.

— Contribution à l'étude cytologique et taxinomique des Bactéries. *Ann. Serv. Botan. de Tunisie*, t. IX, 126 pages, 1927. (Bibliographie jusqu'à cette date).

ROMAN (E.). — Le Bacille tuberculeux. *Thèse Médecine Lyon*, 1930.

SWELLENGREBELL (N. H.). — Sur la Cytologie comparée des Spirochètes et des Spirilles. *Annales Inst. Past., Paris*, XXI, pp. 448-465 et 562-586, 1907, 2 pl.

## MALADIES BACTÉRIENNES

AOKI (K.) et CHIGASAKI (Y.). — Ueber die Pathogenität der sog. Sotto-Bacillen (Ishiwata) bei Seidenraupen. *Mitt. d. medizin. Fakult. d. kais. Univers. zu Tokyo*, XII Bd., pp. 419-439, 1915.

— Ueber das Toxin von sog. Sotto-Bacillen. *Mitt. d. medizin. Fakult. d. kais. Univers. zu Tokyo*, XIV Bd., pp. 59-80, 1915.



AOKI (K.) et CHIGASAKI (Y.). — Ueber atoxogene Sotto-Bacillen. *Bull. of the imper. Seric. Expt. Station*, near Nakano, Tokyo, vol. I, pp. 141-149, 1916.

BARBARA (B.). — Estado actual de los Estudios sobre el *Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle. (*Rev. Instit. Bacteriologico*, Buénos-Ayres, I, pp. 107-113, 1917).

— Valor del *Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle, para destruir la Langosta. *Annales Soc. Rural Argentina*, Buénos-Ayres, LI, pp. 385-387, 1917.

BARBER (M.-A.) et JONES (C.-R.). — A Test of *Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle, on Locusts in the Philippines. *Philippine Jl. Sci.*, Manila, X, Sec. B., pp. 163-176, 1915.

BÉGUET (M.), MUSSO (L.) et SERGENT (Et.). — Troisième campagne contre les Acridiens (*Schistocerca peregrina* Ol.) en Algérie au moyen du *Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle. *Bull. Soc. Path. exotique*, VIII, pp. 634-637, 1915.

BÉGUET (M.). — Deuxième campagne contre les Sauterelles (*Stauronotus maroccanus* Thun.) en Algérie, au moyen du *Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle. *Ann. Inst. Past.*, Paris, XXIX, pp. 520-536, 1915.

— Quatrième campagne contre les Acridiens (*Schistocerca peregrina*) en Algérie, au moyen du *Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle. *Bull. Soc. Path. exotique*, Paris, IX, pp. 679-682, 1916.

— Campagne d'expérimentation de la méthode biologique contre les *Schistocerca peregrina* en Algérie, de décembre 1914 à juillet 1915, et en particulier dans la région de Barika (dép. de Constantine). *Ann. Inst. Past.*, Paris, XXX, pp. 225-242, 1916.

BELANOVSKIJ (I.). — Transmitting agents in insect epidemics. *La défense des plantes*, vol. VII, pp. 269-278, 1931 (en russe).

BERLINER (E.). — Die « Schlaffsucht » der Mehlwurmotte. *Zeitsch. f. das gesam. Getreid.* (Referate aus Zeitsch. f. viss. Insekt., Bd. VIII, pp. 191-192, 1912).

CARLE (G.). — La lutte contre les Sauterelles. *Bull. écon. de Madagascar et dépendances*, Tananarive, n$^{os}$ 3-4, janv. 1915, pp. 243-246.

CHATTON (E.). — Septicémies spontanées à Coccobacilles chez le Hanneton et le Ver à soie. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 156, p. 1707, 1913.

— Recherches sur l'action pathogène de divers Coccobacilles sur le Hanneton, le Ver à soie, la Cochylis et l'Eudémis. *Ann. Serv. Epiph.*, I, pp. 279-391, 1913.

CHORINE (V.). — Les microbes pathogènes de *Galleria mellonella*. *Ann. Inst. Past.*, t. 41, p. 1114, 1927.

Chorine (V.). — Influence de la concentration en ions H du milieu de culture sur la virulence du Coccobacille de la Pyrale du maïs. *C. R. Ac. Sc.*, t. 186, p. 657, 1928.

Dufresnoy (J.). — Les formes de dégénérescence des chenilles de *Cnethocampa pityocampa* parasitées. *C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXII, pp. 288-289, 1919.

Gallardo (A.). — La destruccion de la Langosta por sus enemigos naturales. *Ann. Mus. nac. Hist. nat.*, Buénos-Ayres, XXIII, pp. 155-165, 1912.

Glaser (R. W.). — The bacterial Diseases of Caterpillars. *Psyche*, vol. XXI, pp. 184-190, 1914.

— A Systematic Study of the Organisms distributed under Name of *Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle. *Ann. Entom. Soc. Americ, Columbus*, Ohio, XI, pp. 19-42, 1918.

— A New Bacterial Disease of Gipsy Moth Caterpillars. *Jl. Agr. Research*, Washington, D. C., XIII, pp. 515-522, 1 pl., 1918.

— A bacterial Disease of Silkworms. *Jl of Bacter.*, vol. IX, pp. 339-352, 1924.

— A bacterial Disease of adult House Flies. *The Americ. Jl of Hyg.*, vol. IV, pp. 411-415, 1924.

— Specificity in bacterial Disease with special reference to Silkworms and tent Caterpillars. *Jl of Econ. Entom.*, vol. 18, p. 769, 1925.

— Further experiments on a bacterial Disease of adult Flies with a revision of the etiological agent. *Ann. Entom. Soc. America*, vol. XIX, pp. 193-198, 1926.

D'Hérelle (F.). — Sur une épizootie de nature bactérienne sévissant sur les Sauterelles au Mexique. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 152, p. 1413, 1911.

— Le Coccobacille des Sauterelles. *Ann. Inst. Past.*, Paris, XXVIII, 1914.

— Sur le procédé biologique de destruction des Sauterelles. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, CLXI, pp. 503-505, 1915.

Hollande (A.-Ch.) et Vernier (P.). — *Coccobacillus insectorum* n. sp. variété *malacosomae*, bacille pathogène du sang de la chenille de *Malacosoma castrensis*, L. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 171, p. 206, 1920.

Hubault (E.). — Un Bacille parasite des chenilles de *Dasychira pudibunda* L. (Lépidopt. Lymantriidae). *C. R. Ac. Sc.*, t. 186, p. 1157, 1928.



Husz (B.). — On the use of Bac. Thuringiensis in the Fight against the Corn borer. *Intern. corn borer Invest., Scient. Rep.*, vol. II, pp. 99-105, 1929.

Mc Killop (A.-T.). et Gough (L.-H.). — Report on the great Invasion of Locust in Egypt in 1915 and the Measures adopted to deal with it. *Cairo. Govt. Press*, X, 72 pp., 1916.

Krassilstschik (J.). — La Graphitose et la Septicémie chez les Insectes. *Mémoires de la Société zoolog. de France*, VI, pp. 245-285, 1893.

Kraus (R.). — Zur Frage der Bekämpfung der Heuschrecken mittels des *Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle. *Centralbl. f. Bakt., Paras., u. Infekt.*, II Abt., 45, Band, pp. 594-599, 1916.

Laines (M.). — The most effective scientific means of combating the Grasshoper. *Revista Economica*, Tegucigalpa, Honduras, V, pp. 268-270, 1916.

Lounsbury (C.-P.). — Locust Bacterial Disease. *Agr. Jl. Union of South Africa*, V, pp. 607-611, 1913.

Mereskowsky (S.-S.). — Zur Frage der Vertigung der Wanderheuschrecken durch Kulturen des *Bacillus*, d'Hérelle. *Centralbl. f. Bakt., Paras., u. Infekt.*, II Abt., Bd II, n^os 1-8, 1914.

Metalnikov (S.) et Kitajima. — Une maladie mortelle chez les chenilles de *Galleria mellonella*. *C. R. Soc. biol.*, t. 88, p. 476, 1923.

Metalnikov (S.), Kostritsky (L.) et Toumanoff (H.). — *Bact. tumefaciens* chez les chenilles de *Galleria mellonella*. *C. R. Ac. Sc.*, t. 179, p. 225, 1924.

Metalnikov (S.) et Chorine (V.).— Du rôle joué par les Hyménoptères dans l'infection de *Galleria mellonella*. *C. R. Ac. Sc.*, t. 182, p. 729, 1926.

— The infections diseases of *Pyrausta nubilalis* Hbn. *Intern. corn borer Invest., Scientif. Rep.*, vol. I, pp. 41-69, 1928.

— Experiments on the use of Bacteria to destroy the Corn borer. *Intern. corn borer Invest., Scientif. Rep.*, vol. II, pp. 54-59, 1929.

Morales (D.). — Informe sobre el *Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle. Buenos-Ayres, 1913.

Musso. — Campagne d'expérimentation de la méthode biologique contre les *Schistocerca peregrina*, dans la région de Bougzoul-Msiline, commune mixte de Boghari (dép. d'Alger), mai-juin 1915. *Ann. Inst. Past.*, Paris, XXX, pp. 319-329, 1916.

NICOLLE (Ch.). — Sur l'origine microbienne des agents pathogènes invisibles ou infra-microbes. *Bull. Inst. Past.*, t. XXIX, pp. 209-224 et 273-280, 1931.

NORTHRUP (Z.). — A bacterial Disease of the June Beetles, *Lachnosterna*, sp. *Centbl. f. Bakt. Parasit. u. Infekt.*, Jena, XLI, pp. 321-339, 5 fig., 1914.

PAILLOT (A.). — Coccobacilles parasites d'Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 157, p. 608, 1913.

— Les Microorganismes parasites des Insectes. Leur emploi en Agriculture. *Ann. Serv. Epiph.*, II, pp. 188-232, 1915.

— Existence de plusieurs variétés et races de Coccobacilles dans les Septicémies naturelles du Hanneton. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 163, p. 531, 1916.

— Les Coccobacilles du Hanneton. Action pathogène sur quelques chenilles de Macrolépidoptères. *C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXIX, p. 1102, 1916.

— Microbes nouveaux parasites des chenilles de *Lymantria dispar*. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 164, p. 525, 1917.

— Microbes nouveaux parasites du Hanneton. Action pathogène sur chenilles de *Vanessa urticæ*, *Lymantria dispar* et sur Vers à soie. *C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXX, p. 56, 1917.

— Microbes nouveaux parasites du Hanneton. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 167, p. 1046, 1918.

— Contribution à l'étude des parasites microbiens des Insectes. Etude de *Bacillus hoplosternus*, Paillot. *Ann. Inst. Past.*, Paris, XXXIII, pp. 403-419, 1919.

— La Pseudograsserie, maladie nouvelle des chenilles de *Lymantria dispar*. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 168, p. 258, 1919.

— Sur une réaction des micronucléocytes des chenilles d'*Euproctis chrysorrhœa* contaminées par le *B. melolonthae liquefaciens* γ. *C. R. Soc. Biol.*, Paris, LXXXIII, p. 615, 1920.

— Sur *Coccobacillus insectorum* Hollande et Vernier. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 171, p. 442, 1920.

— Les maladies bactériennes des Insectes ; utilisation en Agriculture des Bactéries entomophytes. *Ann. Serv. des Epiph.*, t. VIII, pp. 95-275, 8 pl., 1921.

— Sur deux Bactéries parasites des larves de *Neurotoma nemoralis*. *C. R. Ac. Sc.*, t. 178, p. 246, 1924.

— La Lyda du Pêcher. Etude biologique. Méthodes de destruction. *Ann. Serv. des Epiph.*, t. X, pp. 147-237, 7 pl., 1924.



PAILLOT (A.). — Rôle des microbes sporulés dans la flacherie du Ver à soie. *C. R. Ac. Sc.*, t. 183, p. 704, 1926.

— Sur un Vibrion parasite des chenilles de *Pieris brassicae*, L. *C. R. Soc. biol.*, t. XCIV, p. 67, 1926.

PANTANELLI. — Esperienze ed osservazioni sui principali sistemi di lotta contro li Cavalette. *Staz. speriment. agrar. italiane*, LI, pp. 245-305, 1918. Résumé in *Bull. Inst. Pasteur*, Paris, XVII, p. 344, 1919.

PFEIFFER (H.) et STAMMER (H. J.). — Pathogenes Leuchten bei Insekten. *Zeitsch. f. Morph. u. ökol. der Tiere*, Bd. 20, pp. 136-171, 1930.

PICARD (F.) et BLANC (G.-R.). — Les infections à Coccobacilles chez les Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 157, p. 79, 1913.

— Sur une Septicémie bacillaire des chenilles d'*Arctia caja*, L. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 156, p. 1334, 1913.

DU PORTE (E.-M.) a. VANDERLECK (J.). — Studies on *Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle, and on certain Intestinal Organisms of Locusts. *Annals Entom. Soc. America*, Columbus, Ohio, X., pp. 47-62, 1917.

ROUBAUD (E.) et DESCAZEAUX. — Sur un agent bactérien pathogène pour les Mouches communes : *Bact. delendae muscae* n. sp. *C. R. Ac. Sc.*, t. 177, p. 716, 1923.

SERGENT (Et.). — La lutte contre les Sauterelles ; résultats des expériences de 1913. *Bull. bi-mens. Off. Gouv. gén. Alg.*, Paris, XX, p. 26, 1914.

SERGENT (Et.) et LHÉRITIER (A.). — Essai de destruction des Sauterelles en Algérie par le *Coccobacillus acridiorum*. *Ann. Inst. Past.*, Paris, XXVIII, pp. 408-419, 1914.

SERGENT (Et.). — Campagne d'expérimentation de la méthode biologique contre les *Schistocerca peregrina* dans la vallée de la Haute-Tafna, commune mixte de Sebdou (départ. d'Oran). Existence d'une épidémie autochtone vaccinante (mai, juin, juillet 1915). *Ann. Inst. Past.*, Paris, XXX, pp. 209-224, 1916.

TANGL (F.). — Bakteriologischer Beitrag zur Nonnenraupen Frage. *Forstw. Centralbl.*, Bd. XV, pp. 209-230, 1893.

TOUMANOFF. — Les maladies bactériennes du couvain des Abeilles. *Bull. Soc. d'Encour. pour l'Industrie nationale*, 1928.

VÉLU (H.) et BOUIN (A.). — Essais de destruction de *Schistocerca peregrina*, Ol., au Maroc, par l'emploi des cultures microbiennes. (*Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle). *Bull. Soc. Path. exotique*, Paris, VIII, pp. 638-641, 1915.

— Essais de destruction du *Schistocerca peregrina* au Maroc, par le *Coccobacillus acridiorum* du D[r] d'Hérelle. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, XXX, pp. 389-421, 1916.

VÉLU (H.). — La lutte contre *Schistocerca peregrina* au Maroc, en 1916, par la méthode biologique ; deuxième campagne d'expérimentation. *Bull. Soc. Path. exotique*, Paris, IX, pp. 682-684, 1916.

— Deuxième campagne d'expérimentation de la méthode d'Hérelle au Maroc contre *Schistocerca peregrina*, Ol. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, XXXI, pp. 277-290, 1917.

— La lutte contre les Acridiens au Maroc. Troisième campagne d'expérimentation de la méthode biologique. *Bull. Soc. Path. exotique*, Paris, XII, p. 362, 1919.

WHITE (G. F.). — Cutworm septicemia. *Jl of Agric. Res.*, vol. XXVI, pp. 487-495, 1923.

## IMMUNITÉ

ACHARD (Ch.) et WEIL (Emile-P.). — Le sang et les organes hématopoïétiques du Lapin, après l'injection intra-veineuse de collargol. *C. R. Soc. biol.*, Paris, LXII, p. 93, 1907.

AGHAR (M.). — Contribution à l'étude de l'immunité chez les Insectes. *Thèse Pharmacie, Montpellier*, 1928.

BÉGUET (M.). — Hypothèses sur le rôle de la pression osmotique dans les phénomènes microbiens. *Arch. Inst. Past. Algérie*, t. V, pp. 25-31, 1927.

CANTACUZÈNE (J.). — Anticorps normaux et expérimentaux chez quelques Invertébrés marins. *C. R. Soc. biol.*, LXXXII, pp.1087-1088, 1919.

— Le problème de l'immunité chez les Invertébrés.— Communication faite à la célébration du 75e anniversaire de la fondation de la Société de biologie, 72 p., 1923.

CHIGASAKI (J.). — Sur l'immunisation de *Galleria* aux différents stades de sa vie. *C. R. Soc. biol.*, t. XCIII, p. 573, 1925.

— Sur la sensibilité des chenilles, des chrysalides et des papillons de *Galleria mellonella*. *C. R. Soc. biol.*, t. XCIII, p. 480, 1925.

CHORINE (V.). — Sur la spécificité de l'immunité chez les Insectes. *C. R. Soc. biol.*, t. 97, p. 1395, 1927.

— Sur l'immunisation des chenilles de *Galleria mellonella* contre le *Bact. galleriae* N° 2. *C. R. Ac. Sc.*, t. 186, p. 1659, 1928.



CHORINE (V.). — Immunité antitoxique chez les chenilles de *Galleria mellonella*. *Ann. Inst. Past.*, t. 43, pp. 955-958, 1929.

CHORINE (V.) et KORVINE-KROUKOVSKY (K.). — Sur l'immunisation des fragments isolés du corps des chenilles de *Galleria mellonella*. *C. R. Soc. biol.*, t. 100, p. 15, 1929.

COMMANDON (J.). — Mouvements des leucocytes et quelques tactismes étudiés à l'aide de l'enregistrement cinématographique. *Ann. Inst. Past., Paris*, XXXIV, pp. 1-24, 1920. (Bibliographie sur le mécanisme de la phagocytose).

CUÉNOT (L.). — Etudes physiologiques sur les Orthoptères. *Arch. biol.*, XIV, pp. 293-341, 1895, 2 pl.

— Les globules sanguins et les organes lymphoïdes des Invertébrés. *Arch. Anat. micr.*, I, 1897.

DUSTIN (A.-P.). — Déclenchement expérimental d'une onde cinétique par injection intrapéritonéale de sérum. *C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXV, 1921.

— Trois leçons sur la régulation de la multiplication cellulaire à l'état normal et à l'état pathologique. *Revue médic. de l'Est*, 1er-15 janvier et 1er février 1929.

DUSTIN (A.-P.) et CHAPEAUVILLE (Mlle J.). — Les caractères de l'onde cinétique déclenchée par une injection intrapéritonéale de peptone. *C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXVI, p. 509, 1922.

FIESSINGER (N.). — Rôle de la lipase dans la défense antibacillaire. *Rev. de la tuberc.* 2e série, t. 7, pp. 177-199, 1910.

GLASER (R.-W.). — On the Existence of Immunity Principles in Insectes. *Psyche*, Boston, Mass., XXV, pp. 39-46, 1918.

— Acquired immunity in Silkworms. *Jl. of Immunol.*, vol. X, pp. 651-662, 1925.

HOLLANDE (A. Ch.). — Contribution à l'étude du sang des Coléoptères. *Arch. Zool. expér. et gén.*, II, 5e série, 1909.

— Etude histologique comparée du sang des Insectes à hémorrhée et des Insectes sans hémorrhée. *Arch. Zool. exp. et génér.*, VI, 5e série, pp. 283-323, 1911.

— Absence d'alexine dans le sang des Insectes. *C. R. Soc. biol.*, t. 82, p. 218, 1919.

— Œnocytoïdes et Tératocytes du sang des chenilles. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 170, p. 1341, 1920.

HOLLANDE (A.-Ch.). — La digestion des Bacilles tuberculeux par les leucocytes du sang des chenilles. *Arch. Zool. exp.*, t. 70, pp. 231-280, 1930.

HOLLANDE (Ch.) et VICHER (M.). — Vaccination de l'Insecte par un virus vivant sensibilisé. *C. R. Soc. biol.*, t. 99, p. 1471, 1918.

HOLLANDE (Ch.) et AGHAR (M.). — La phagocytose et la digestion du Bacille tuberculeux par les leucocytes du sang des chenilles autres que *Galleria mellonella. C. R. Soc. biol.*, t. 99, p. 120, 1928.

HUFNAGEL (A.). — Recherches histologiques sur la métamorphose d'un Lépidoptère (*Hyponomeuta padella*, L.). *Arch. Zool. exp. et génér.*, LVII, pp. 47-202, 104 fig., 5 pl., 1918.

JUCCI (C.). — L'immunità negli insetti. *Annali d'Igiene*, Anno XXXIV, fasc. 6, 21 p., 1924.

KOLLMANN (M.). — Recherches sur les leucocytes et le tissu lymphoïde des Invertébrés. *Ann. Sc. nat. Zool.*, VIII, pp. 1-240, 1908, 2 pl.

DE LAET (M.). — Production de leucocytes polynucléés par des fragments de rate cultivés *in vitro. Ann. Inst. Past.*, Paris, XXXIII, pp. 807-816, 1919.

LEDINGHAM (J.-C.-G.). — The Influence of Temperature on Phagocytosis. *Procedings of the Royal Society of London*, LXXX, pp. 188-195, 1908.

LEVADITI (C.) et MUTERMILCH (St.). — Mécanisme de la Phagocytose. *C. R. Soc. Biol.*, Paris, LXVII, pp. 1079-1081, 1910.

LISON (L.). — Contribution à l'étude des hémamibocytes des Oligochètes terricoles. *Arch. Biol.*, t. XXXVIII, pp. 411-455, 1928.

— Recherches sur les mouvements des amibocytes des Invertébrés. « *Protoplasma* », t. IV, pp. 367-387, 1928.

METALNIKOV (S.). — Contribution à l'étude de l'immunité de la Mite des ruches d'Abeilles (*Galleria mellonella*) vis-à-vis de l'infection tuberculeuse. *Arch. sc. biol.*, St-Pétersbourg, XII, pp. 300-317, 1907, 2 pl.

— Recherches expérimentales sur les chenilles de *Galleria mellonella. Arch. Zool. expér.*, VIII, IV^e^ série, pp. 489-588, 1908.

— Immunité de la chenille contre divers microbes. *C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 119, 1920.

— L'immunité chez les Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 171, p. 757, 1920.

— Sur la digestion des Bacilles tuberculeux dans le corps des chenilles des Mites des Abeilles (*Galleria mellonella*). *C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 214, 1920.



METALNIKOV (S.). — Bacille dysentérique et Bactériophage de d'Hérelle, chez les chenilles de *Galleria mellonella. C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 667, 1920.

— Immunité naturelle et acquise des chenilles de *Galleria mellonella. C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 817, 1920.

— L'immunité naturelle et acquise chez la chenille de *Galleria mellonella* (premier mémoire). *Ann. Inst. Past.*, Paris, XXXIV, pp. 888-1009, 1920.

— L'immunité naturelle et acquise chez la chenille de *Galleria mellonella* (deuxième mémoire). *Ann. Inst. Past.*, Paris, XXXV, pp. 363-377, 1921.

— Les changements des éléments du sang de la chenille (*Galleria mellonella*) pendant l'immunisation. *C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXVI, p. 350, 1922.

— L'anaphylaxie et l'immunité. *Ann. Inst.* Past., t. XXXVI, p. 632, 1922.

— Rôle des anticorps dans l'immunité des chenilles. *Ann. Inst. Past.*, t. 37, pp. 528-536, 1923.

— Sur l'hérédité de l'immunité acquise. *C. R. Ac. Sc.*, t. 179, p. 514, 1924.

— L'infection microbienne et l'immunité chez la Mite des Abeilles *Galleria mellonella. Monog. Institut Pasteur*, Masson et Cie, Paris, 1927.

— Immunité d'adaptation et immunité de défense. *C. R. Soc. biol.*, t. 101, p. 34, 1929.

— Etude sur l'immunité naturelle et acquise de *Pyrausta nubilalis. Ann. Inst. Past.*, t. XLIV, pp. 273-295, 1930.

— Rôle du système nerveux et des réflexes conditionnels dans l'immunité. *Ann. Inst. Past.*, t. XLVI, pp. 137-168, 1931.

METALNIKOV (S.) et GASCHEN (H.). — Sur la rapidité d'immunisation chez la chenille de *Galleria. C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXV, p. 224, 1921.

— Immunité et hypersensibilité chez la chenille. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 173, p. 336, 1921.

— Immunité cellulaire et humorale chez la chenille (3^e^ mémoire). *Ann. Inst. Past.*, t. XXXVI, p. 233, 1922.

METALNIKOV S.) et EPHRUSSI (B.). — Phagocytose et virulence des microbes. *C. R. Soc. biol.*, t. 86, p. 65, 1922.

METALNIKOV (S.) et TOUMANOFF (K.). — La lèpre chez les Insectes. *C. R. Soc. biol.*, t. 89, p. 935, 1923.

METALNIKOV (S.) et ISCHIMORI. — Immunisation des chenilles par des substances non spécifiques. *C. R. Ac. Sc.*, t. 178, p. 2136, 1924.

METALNIKOV (S.) et CHORINE (V.). — On the natural and acquired immunity of *Pyrausta nubilalis* Hb. *Intern. corn borer Invest., Scient. Rep.*, vol. II, pp. 22-38, 1929.

METSCHNIKOFF (E.). — L'immunité dans les maladies infectieuses, Paris, 1901.

— Sur l'état actuel de la question de l'immunité dans les maladies infectieuses. Conférence Nobel faite à Stockolm le 14 mai 1909. *Bull. Inst. Past.*, Paris, VII, pp. 545, et 593, 1909.

PAILLOT (A.). — Cytologie du sang des chenilles de Macrolépidoptères. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 169, p. 202, 1919.

— La Caryocinétose ; faits nouveaux et considérations générales. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 169, p. 740, 1919.

— La Caryocinétose, nouvelle réaction d'immunité naturelle observée chez les chenilles de Macrolépidoptères. *C. R. Ac. Sc.*, 169, p. 396, 1919.

— L'immunité naturelle chez les Insectes. Etude d'un cas d'immunité humorale. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 169, p. 1122, 1919.

— La Phagocytose chez les Insectes. *C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 425, 1920.

— Sur la Caryocinétose et les réactions similaires chez les Vertébrés. *C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 427, 1920.

— L'immunité acquise chez les Insectes. *C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 278, 1920.

— Mécanisme de l'immunité humorale chez les Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 172, p. 397, 1921.

— Contribution à l'étude de l'immunité humorale chez les Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, 172, p. 546, 1921.

— Influence de la température sur le mécanisme de l'immunité humorale chez les Insectes. *C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIV, p. 737, 1921.

— Les caractères de l'immunité chez les Insectes. — Communication faite à la célébration du 75[e] anniversaire de la *Société de biologie*, 1923.

— Sur une technique nouvelle permettant l'étude vitale du sang des Insectes. *C. R. Soc. biol.*, t. 88, p. 1046, 1923.

— L'étude de l'immunité chez les Insectes et les notions que peut en tirer la Pathologie générale. *Jl. Médec. Lyon*, n° 86, pp. 455-459, 1923.



PAILLOT (A.). — Etude *in vitro* dans le sang des Insectes de la caryocinèse normale et de la réaction de caryocinétose. *Bull. Hist. appl.*, t. I, pp. 216-223, 1924.

— Une Science nouvelle : l'Immunologie comparée. *Rev. Gén. Sc.*, 35[e] année, pp 422-429, 1924.

PORCHET (B.). — Contribution à l'étude des réactions immunitaires chez les Invertébrés. *Thèse Faculté des Sciences de Lausanne*, 1928.

POYARKOFF (E.). — Recherches histologiques sur la métamorphose d'un Coléoptère (La Galéruque de l'Orme). *Arch. Anat. micr.*, XII, pp. 333-474, 1910.

ROUS (Peyton) et JONES (F.-S.). — The Protection of pathogenic Microorganismus by living Tissue Cells. *Jl. of exper. Med.*, XXIII, p. 601, 1916.

SKOBELTZYNE (V.). — Influence du système nerveux sur l'immunité chez les chenilles de *Galleria mellonella*. *Ann. Inst. Past.*, t. 47, pp. 660-666, 1931.

TATEIVA (J.). — La formule leucocytaire du sang des chenilles normales et immunisées de *Galleria mellonella*. *Ann. Inst. Past.*, t. 42, p. 791, 1928.

TOUMANOFF (K.). — Essais sur l'immunisation des Abeilles. *C. R. Ac. Sc.*, t. 185, p. 1078, 1927.

VICHER (M.). — Contribution à l'étude de l'immunité chez l'Insecte. *Thèse Pharmacie Montpellier*, 1928.

ZERNOFF (V.). — Sur la spécificité de l'immunité passive chez *Galleria mellonella*. *C. R. Soc. biol.*, t. 98, p. 1500, 1927.

— Sur la nature de l'immunité passive chez les chenilles. *C. R. Soc. biol.*, t. 99, p. 315, 1927.

— Les bactériolysines chez les Insectes. *Ann. Inst. Past.*, t. 46, p. 365, 1931.

## SYMBIOSE

BALBIANI (E.-G.). — Sur la reproduction et l'embryogénie des Pucerons. *C. R. Ac. Sc.*, t. 62, p. 1231, 1285 et 1390, 1866.

— Mémoire sur la génération des Aphides. *Ann. Sc. nat.*, 5[e] série, t. XI, XIV, XV, 1869, 1870, 1872.

BALBIANI (E.-G.). — Sur la parthénogénèse du Phylloxera comparée à celle des autres Pucerons. *C. R. Ac. Sc.*, t. 82, 1876.

BALBIANI (E.-G.) et SIGNORET. — Sur la reproduction du Puceron brun de l'Erable. *C. R. Ac. Sc.*, t. 64, p. 1259, 1867.

BUCHNER (P.). — Ueber intrazellulare Symbionten bei zuckersaugenden Insekten und ihre Vererbung. *Stzber. Ges. Morph. u. Phys.*, München, 1911.

— Studien an intrazellularen Symbionten. I. Die intrazellularen Symbionten der Hemipteren. *Arch. f. Protist.*, 26 Bd., pp. 1-116, 17 pl., 1912.

— Studien an intrazellularen Symbionten. 2. Die Symbionten von Aleurodes, ihr übertragung in das Ei und ihr Verhalten bei der Embryonalentwicklung. *Arch. f. Protist.*, 39 Bd., pp. 34-61, 2 pl., 1918.

— Rassen-und Bakteroidenbildung bei Hemipterensymbiosen. *Biol. centralbl.*, 42 Bd., pp. 319-336, 1922.

— Studien an intrazellularen Symbionten. 5. Die symbiontischen Einrichtungen der Zikaden. *Zeitsch. f. Morph. u. ökol. der Tiere*, 4 Bd., pp. 88-245, 1925.

— Die Grenzen des Symbioseprinzipes. *Naturwissenschaften*, 16 Bd., 1929.

CLAPARÈDE (E.) — Note sur la reproduction des Pucerons. *Ann. Sc. nat.*, V[e] sér. zool., t. VII, pp. 21-29, 1867.

GLASER (R. W.) — Biological studies on intracellular Bacteria n° 1. *Biol. Bull.*, vol. XXXIX, pp. 133-145, 1920.

— The Intracellular Symbionts and the Rickettsiae. *Archives of Pathology*, vol. 9, part. I, pp. 71-96 and 557-576, 1930.

HIRSCHLER (J.). — Embryologische Untersuchungen an Aphiden. *Zeitsch. f. wiss. Zool.*, 100 Bd., pp. 393-446, 1912.

KLEVENHUSEN (Fr.). — Beiträge zur Kenntnis der Aphidensymbiose. *Zeitsch. f. Morph. u. ökol. der Tiere*, 9 Bd., pp. 97-165, 2 pl., 1927.

KRASSILSTCHICK (J.). — Sur les Bactéries biophytes. Note sur la symbiose de Pucerons avec des Bactéries. *Ann. Inst. Past.*, t. III, pp. 465-472, 1889.

LEYDIG (Fr.). — Einige Bemerkungen über die Entwicklung der Blattlaüse. *Zeitsch. f. wiss. Zool.*, II Bd., pp. 62-66, 1850.

MARCHAL (P.). — Les ennemis du Puceron lanigère. Conditions biologiques de sa multiplication. Traitements. *Ann. Serv. des Epiph.*, t. XV, pp. 125-181, 1929.



METCHNIKOFF (E.). — Embryologische Studien an Insekten. *Zeitsch. f. wiss. Zool.*, Bd 16, pp. 389-500, 1866.

PAILLOT (A.). — La symbiose bactérienne et l'immunité humorale chez les Aphides. *C. R. Ac. Sc.*, t. 188, p. 1118, 1929.

— Sur l'origine infectieuse des microorganismes d'Aphides. *C. R. Ac. Sc.*, t. 189, p. 210, 1929.

— Parasitisme bactérien et symbiose chez l'*Aphis mali*. *C. R. Ac. Sc.*, t. 190, p. 895, 1930.

— Sur la spécificité parasitaire des Bactéries infectant normalement les Pucerons. *C. R. Soc. biol.*, t. 103, p. 89, 1930.

— Les réactions cellulaires et humorales d'immunité antimicrobienne dans le phénomène de la symbiose chez *Macrosiphum jaceae*. *C. R. Ac. Sc.*, t. 190, p. 330, 1930.

— Mécanisme de la symbiose chez le *Drepanosiphum platanoides*. *C. R. Soc. biol.*, t. 103, p. 1138, 1930.

— Parasitisme bactérien et symbiose chez *Aphis atriplicis*, L. *C. R. Ac. Sc.*, t. 193, p. 676, 1931.

— Les variations morphologiques du Bacille symbiotique de *Macrosiphum tanaceti*. *C. R. Ac. Sc.*, t. 193, p. 1222, 1931.

— Parasitisme et symbiose chez les Aphides. *C. R. Ac. Sc.*, t. 193, p. 300, 1931.

— Les variations du parasitisme bactérien normal chez le *Chaitophorus lyropictus*, Kessl., *C. R. Ac. Sc.*, t. 194, p. 135, 1932.

PEKLO (J.). — Ueber symbiontische Bakterien der Aphiden. *Vorl. Mitt. Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, 30 Bd., p. 416, 1912.

— Sur le Puceron lanigère (en tchécoslovaque). *Zemědělského Archivu*, t. VII, 18 p., 1916.

PIERANTONI (U.). — L'origine di alcuni organi d'*Icerya purchasi* e la simbiosi ereditaria. Nota preliminare. *Boll. Soc. Nat. Napoli*, t. 23, pp. 147-150, 1909.

— Ulteriori osservazioni sulla simbiosi ereditaria degli Omotteri. *Zool. Anz.*, 36 Bd., pp. 96-111, 1910.

PORTIER (P.). — Recherches sur les microorganismes symbiotiques dans la série animale. *C. R. Ac. Sc.*, t. 165, p. 196, 1917.

RONDELLI (M.). — Contributo alla conescenza della symbiosi negli ematofagi (Tiques). *Atti d. R. Acad. Sc. di Torino*, t. 60, pp. 81-85, 1924-1925.

SCHRADER (Fr.). — The origin of the mycetocytes in Pseudococcus. *Biol. Bull.*, vol. 45, 1923.

SELL. — Dissertation. München, 1919 (non publié ; résultats des observations de l'auteur exposés dans la 2e édition de l'ouvrage de P. Buchner : Tier und Pflanze).

STEVENS (N. M.). — A study of the germe cells of *Aphis rosae* and *Aphis œnotheræ*. *Jl of exp. Zool.*, vol. 2, pp. 314-334, 1905.

SULC (K.). — « Pseudovitellus » und ähnliche Gewebe der Homopteren sind wohnstätten symbiotischer Saccharomyceten. *Sitzb. der königl. Böhm. Geselsch. der wissensch. in Prag*, 39 p., 1910.

TANNREUTHER (G. W.). — History of the germ cells and early embryology of certain Aphids. *Zool. Jahrb. Abt. Anat. u. Ontog. der Tiere*, t. 24, pp. 609-642, 1907.

UICHANCO (L.-B.). — Studies on the embryogenic and postnatal development of the Aphididae with special reference to the history of the « Symbiotic organ », or « Mycetom ». *The Philip. Jl of Sc.*, vol. 24, pp. 143-247, 13 pl., 1924.

WEBSTER (F. M.) and PHILLIPS (W. J.). — The Spring Grain-Aphis or Green Bug. *U. S. Dep. of Agr. Bull. n°* 110, Washington, 1912.

WILL (L.). — Entwicklungsgeschichte der viviparen Aphiden. *Zool. Jahrb. Abt. f. Anat.*, t. 3, pp. 201-286, 1889.

WITLACZIL (E.). — Zur Anatomie der Aphiden. *Arb. a. d. zool. Inst. Wien*, Bd. 4, pp. 397-441, 1882.

— Entwicklungsgeschichte der Aphiden. *Zeitsch. f. wiss. Zool.*, Bd. 40, pp. 559-696, 1884.

## ROLE DES INSECTES DANS LA TRANSMISSION DES MALADIES

ABE (T.). — Zur Frage der Fleckfieberätiologie. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 91, pp. 217-227, 1924.

ANDERSON et GOLDBERGER. — The relation of so called Brill's disease to typhus fever. An experimental demonstration of their identity. *Public Health Rep.*, 2 février 1912.

ANDERSON (Ch.) et COWDRY (E. V.). — Etudes cytologiques sur le paludisme. Premier mémoire. Etude de la flagellation du *Plasmodium kochi* avec le fond noir. *Arch. Inst. Past. Tunis*, t. XVII, pp. 46-72, 1928.



ANIGSTEIN (L.). — Untersuchungen über die Morphologie und Biologie der *Rickettsia melophagi*, Nöller. *Arch. f. Protist.*, 57 Bd., p. 209, 1927.

— Rôle du Rat dans les maladies du groupe du typhus exanthématique. *Ann. Hyg.*, p. 600, nov. 1931.

ARKWRIGHT (J.-A.), BACOT (A.) et DUNCAN (F.-M.). — Preliminary Note on the Association of Rickettsia bodies in Lice with Trench Fever. *Brit. Med. Jl.*, p. 307, 21 sept 1918.

— The minute Bodies (*Rickettsia*) found in association with Trench Fever, Typhus Fever and Rocky Mountain Spotted Fever. *Trans. Soc. Trop. Med. Hyg., London*, vol. XII, pp. 61-73, 1919.

ARKWRIGHT (J.-A.), ATKIN (E.-E.) a. BACOT (A.). — An hereditary Rickettsia-Like Parasite of the Bed bug (*Cimex lectularius*). *Parasitology*, vol. 13, p. 27, 1921-1922.

ARKWRIGHT (J.-A.) et BACOT (A.). — Investigations of aetiology of Typhus Fever especially undertaken for the Egyptian Government in the public Health Laboratories Cairo. *The Brit. Jl. of exp. Path.*, vol. 4, pp. 70-80, 1923.

— Observations on the Morphology of *Rickettsia prowazeki* occuring in Lice (*Pediculus humanus*) infected with the Virus of Typhus Fever. *Parasitology*, vol. 15, p. 43, 1923-1924.

ASCIONE (G.) et MARIOTTI (E.). — Sulla filtrabilita dei parassiti malarici attraverso candele Berkefeld. *Premier Congrès Intern. d'Hyg. Méditerr.*, Marseille, sept. 1932.

ATKIN (E.) a. BACOT (A.). — Experiments on the Infectivity of Typhus Virus. *Brit. Jl. Exper. Path.*, vol. 3, p. 196, 1922-1923.

BACOT (A.). — On the probable Identity of *Rickettsia pediculi* with *Rickettsia quintana*. *Brit. Med. Jl.*, vol. I, p. 156, 1921.

— Details of the Technique adopted in following Weigl's Plan of Feeding Lice infected with the Virus of Typhus Fever by rectal Injection. *Brit. Jl. Exper. Path.*, vol. 3, p. 72, 1922.

BADGER (L.-F.), DYER (R.-E.) et RUMREICH (A.). — An infection of the Rocky Mountain spotted fever Type. Identification in the Eastern part of the United States. *Publ. Hlth. Rep.*, vol. XLVI, pp. 463-470, 1931.

BARYKIN (W.), ZACHAROFF (A.), KOMPANEETZ (A.) et BARYKIN (O.). — Le Typhus chez les Poux des vêtements. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 112, pp. pp. 25-32, 1929.

BARYKINE (W.), MINERVINE (S.) et KOMPANEEZ (A.). — Le typhus exanthématique inapparent et son importance épidémiologique. *Arch. Inst. Past. Tunis*, t. XIX, pp. 422-432, 1930.

BLANC (G.) et CAMINOPETROS (J.). — Quelques recherches expérimentales sur la dengue. *Bull. Soc. path. exot.*, t. 21, pp. 525-537, 1928.

— Expériences faites en Grèce sur le mode de transmission de la dengue. *C. R. Ac. Sc.*, t. 187, p. 1081, 1928.

— Quelques données expérimentales sur le virus de la dengue. *C. R. Ac. Sc.*, t. 189, p. 594, 1929.

— Durée de la conservation du virus de la dengue chez les Stegomya. L'influence de la saison froide sur le pouvoir infectant. *C. R. Ac. Sc.*, t. 188, p. 1273, 1929.

— Recherches expérimentales et épidémiologiques sur le mode de transmission de la dengue en Grèce. *Bull. Méd.*, t. 43, p. 978, 1929.

— La transmission des varioles aviaires par les Moustiques. *Rev. Gén. Médec. vétérin.*, t. XXXIV, pp. 456-563, 1930.

— Comment les faits épidémiologiques, en Grèce, montrent le rôle exclusif joué par le *Stegomya fasciata* (*Aedes Aegypti*) dans la transmission de la dengue. — Travail communiqué au Congrès de l'Association pour l'Avancement des Sciences, à Alger (1930) ; publié dans *Arch. Inst. Past.*, Athènes, t. II, pp. 277-294, 1930.

— Recherches expérimentales sur la dengue. *Ann. Inst. Past.*, t. XLIV, pp. 367-437, 1930.

— Sensibilité du spermophile en Macédoine (*Citillus citillus*) au Kala-Azar méditerranéen. *C. R. Ac. Sc.*, t. 191, 1930.

— La fièvre boutonneuse en Grèce. *Arch. Inst. Past. Athènes*, t. II, p. 459, 1931.

— Etudes épidémiologiques et expérimentales sur la fièvre boutonneuse faites à l'Institut Pasteur d'Athènes. *Arch. Inst. Past. Tunis*, t. 20, pp. 344-394, 1931-1932.

BRADFORD (J.-R.), BASHFORD (E.-F.) a. WILSON (J.-A.). — Preliminary Report on the Presence of a « Filter Passing » Virus in Certain Diseases, with Especial Reference to Trench Fever, Influenza and Nephritis. *Jl. R. A. M. C.*, London, vol. XXXII, pp. 146-149, 1919.

BRUCE (D.) et Collab. — Transmission of Trench Fever by the Louse. *Brit. Med. Jl.*, 23 mars 1918, p. 354.

BRUCE (D.). — Trench Fever : Final Report of the War Office Trench Fever. Investigation Committee. *Jl. Hyg.*, t. 20, p. 258, 1921-1922.

BRUMPT (E.). — Au sujet d'un parasite (*Rickettsia prowazeki*) des Poux de l'Homme considéré à tort comme l'agent causal du Typhus exanthématique. *Bull. Soc. Path. exot.*, t. II, p. 249, 1918.



BRUMPT (E.). — Les parasites du Rat et leur rôle en pathologie humaine. 2e *Congrès intern. et Cong. Colon. du Rat et de la Peste*, Paris, 7-12 octobre 1931, pp. 374-422.

— La fièvre boutonneuse et la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses sont deux maladies distinctes. Résultats de l'épreuve de l'immunité croisée dans les maladies exanthématiques. *C. R. Soc. biol.*, t. CX, p. 1197, 1932.

— Longévité du virus de la fièvre boutonneuse (*Rickettsia conori* n. sp.) chez la Tique *Rhipicephalus sanguineus*. *C. R. Soc. Biol.*, t. CX, p. 1199, 1932.

BYAM (W.), CARROL (J.-H.), CHURCHILL (J.-H.), DUMOND (L.), LOYD (L.-L.), SORAPURE (V.-E.) a. WILSON (R.-M.). — Trench Fever a Louse-borne Disease. *Trans. Soc. of Trop. Med. a. Hyg.*, vol. XI, pp. 237-290, 1918.

CASTANEDA (R.). — A Study of the relationship of the scrotal swelling and Rickettsia bodies to Mexican Typhus Fever. *Jl. Exper. Med.*, t. 52, p. 195, 1930.

CASTANEDA (R.) a. ZINSSER (H.). — Studies on Typhus Fever. III. Studies of Lice and Bedbugs (*Cimex lectularius*) with Mexican Typhus Fever Virus. *Jl. Exp. Med.*, t. 52, p. 661, 1930.

LE CHUITON (F.) et MOUREAU (M.). — Présence d'un virus du typhus murin chez les Rats de Bordeaux. Disparition de la périorchite du Cobaye au cours des passages. Réceptivité du Lapin à ce virus. *C. R. Soc. biol.*, t. CXI, p. 167, 1932.

CONNOR (Ch.-L.). — The identification of the organism of Rocky Mountain Spotted Fever in the blood. *Jl. Inf. Dis.*, vol. XXXV, p. 587, 1924.

COWDRY (E.-V.). — The distribution of Rickettsia in the tissues of Insects and Arachnids. *Jl. Exp. Med.*, vol. 37, pp. 431-456, 1923.

— A group of Microorganisms transmitted hereditarily in Ticks and apparently unassocied with Disease. *Jl. Exp. Med.*, vol. 41, p. 817, 1925.

— Studies on the etiology of Heartwater. I. Observation of a Rickettsia, *Rickettsia ruminantium* n. sp., in the tissues of infected animals. *Jl. Exp. Med.*, vol. 42, pp. 231-252, 1925.

— Studies on the etiology of Heartwater. II. *Rickettsia ruminantium* n. sp. in the Tissues of Ticks transmitting the disease. *Jl. Exp. Med.*, vol. 42, pp. 253-274, 1925.

— The occurence of Rickettsia-like microorganisms in adult « Locusts » (*Tibicen septemdecim*, L.). *Biol. Bull.*, vol. 48, p. 15, 1925.

— Rickettsiae and Disease. *Arch. Path. and Lab. Med. Chicago*, vol. 2, p. 59, 1926.

COWDRY (E.-V.). — Studies on the etiology of Heartwater. III. The multiplication of *Rickettsia ruminantium* within the endothelial cells of infected animals and their discharge in to the circulation. *Jl. Exp. Med.*, vol. 44, pp. 803-814, 1926.

— The life cycle of the parasite of East Coast Fever in Ticks transmitting the disease (Preliminary note). *Science*, vol. LXXII, pp. 461-462, 1930.

COWDRY (E.-V.) et COWELL (W.-P.). — Etudes cytologiques sur le paludisme (Deuxième mémoire). *Arch. Inst. Past. Tunis*, t. XVII, pp. 147-156, 1928.

DAVIES (F. C.) et WELDON (R. P.). — A preliminary contribution on « P. U. O. » (Trench Fever). *Lancet*, p. 183, fév. 1917.

DELANOË (P.). — Contribution à l'étude du Spirochète marocain *Sp. hispanicum* var. *marocanum* Ch. Nicolle et Ch. Anderson. *Arch. Inst. Past. Tunis*, t. XVIII, pp. 133-162, 1929.

— Le réservoir de virus du Spirochète marocain, *Sp. hispanicum* S. de Buen var. *marocanum* Ch. Nic. et Ch. And. *Arch. Inst. Past., Tunis*, t. 20, p. 286, 1931-1932.

DENNIS (E. W.). — The Life-cycle of *Babesia bigemina* (Smith and Kilbourne) of Texas Cattle-Fever in the Tick *Margaropus annulatus* (Say). *Univ. of California Public. in Zool.*, vol. 36, pp. 263-298, 1932.

DOVE (W.-E.) et SHELMIRE (B.). — Tropical Rat Mites, *Liponyssus bacoti* Hirst, Vectors of Endemic Typhus. *Jl. Amer. Med. Ass.*, vol. 97, pp. 1506-1510, 1931.

DURAND (P.). — *Rhipicephalus sanguineus* et virus de la fièvre boutonneuse de Tunisie. *C. R. Ac. Sc.*, t. 192, p. 857, 1931.

— Le chien réservoir de virus de la fièvre boutonneuse. *C. R. Ac. Sc.*, t. 194, p. 918, 1932.

— Réaction de Weil-Félix et fièvre exanthématique. *C. R. Ac. Sc.*, t. 194, p. 569, 1932.

DURAND (P.) et CONSEIL (E.). — Transmission expérimentale de la fièvre boutonneuse par *Rhipicephalus sanguineus*. *C. R. Ac. Sc.*, t. 190, p. 1924, 1930.

DUVAL (Ch.-H.) a. HARRIS (W.-H.). — Studies upon the etiology of Dengue fever. Cultivation and nature of the virus. *Jl. Exp. Med.*, t. 42, pp. 835-844, 1924.

DYER (R.-E.), BADGER (L.-F.) and RUMREICH (A.). — Rocky Mountain Spotted Fever (Eastern type) Transmission by the american Dog Tick



(*Dermacentor variabilis*). *Publ. Hlth. Rep.*, vol. LVI, pp. 1403-1413, 1931.

— The typhus Rocky Mountain spotted fever group in the United States. *Jl. Amer. Med. Assoc.*, vol. 97, pp. 589-594, 1931.

— Typhus fever. A virus of the Typhus (Brill's disease). Type derived from Fleas collected from wild Rats. *Publ. Hlth. Rep.*, vol. XLVI, pp. 334-338, 1931.

DYER (R.-E.), CEDER (E.-T.), RUMREICH (A.) et BADGER (L.-F.). — Typhus fever. The Rat Flea, *Xenopsylla cheopis*, in experimental Transmission *Publ. Hlth. Rep.*, vol. XLVI, pp. 1869-1870, 1931.

— Experimental transmission of Endemic Typhus fever of the United States by the Rat Flea (*Xenopsylla cheopis*). *Publ. Hlth. Rep.*, vol. XLVI, pp. 2415-2416, 1931.

DYER (R.-E.), CEDER (E.-T.), LILLIE (R.-D.), RUMREICH (A.) et BADGER (L.-F.). — The experimental transmission of Endemic Typhus fever of the United States by the Rat Flea *Xenopsylla cheopis*. *Publ. Hlth. Rep.*, vol. XLVI, pp. 2481-2499, 1931.

DYER (R.-E.), WORKMAN (W.-G.), BADGER (L.-F.) et RUMREICH (A.). — The experimental transmission of Endemic Typhus Fever of the United States by Rat Flea *Ceratophyllus fasciatus*. *Publ. Hlth. Rep.*, vol. XLVII, p. 931, 1932.

DYER (R.-E.), WORKMAN (W.-G.), CEDER (E.-T.), BADGER (L.-F.) et RUMREICH (A.). — The multiplication of the Virus of Endemic Typhus in the Rat Flea *Xenopsylla cheopis*. *Publ. Hlth. Rep.*, vol. XLVII, pp. 987-994, 1932.

EPSTEIN (H.). — Beiträge zur Kenntnis der *Rickettsia prowazeki*. *Centralbl. f. Bakt.*, I, Bd. 87, pp. 553-556, 1922.

FEJGIN (Br.). — Sur la modification *in vivo* de la souche 160 isolée du Cobaye malade de Typhus exanthématique. *C. R. Soc. Biol.*, t. 90, p. 700, 1924.

— Sur la bactériologie du Typhus exanthématique expérimental. *C. R. Soc. Biol.*, t. 90, p. 701, 1924.

— Sur les variations brusques du *Proteus* HX19 survenues sous l'influence de l'agent lytique anti-HX19 et leur rapport avec les souches isolées des Cobayes infectés avec le virus de passage du typhus exanthématique. *C. R. Soc. Biol.*, t. 90, p. 1106, 1924.

FEJGIN (Br.). — Recherches sur le Typhus exanthématique expérimental. *C. R. Soc. Biol.*, t. 90, p. 1200, 1924.

— Sur le HX19 provenant de la *Rickettsia prowazeki*. *C. R. Soc. Biol.*, t. 91, p. 976, 1924.

— Contribution à l'étude de la forme filtrante dans le Typhus expérimental. *C. R. Soc. Biol.*, t. 93, p. 1396, 1925.

— Au sujet du sérum de Kuczynski et d'une variation du *Proteus* X19 obtenu à partir de *Rickettsia prowazeki*. *C. R. Soc. Biol.*, t. 95, p. 120, 1926.

— Sur la forme filtrable des Bactéries du groupe du *Proteus* X19 dans le Typhus exanthématique expérimental. *C. R. Soc. Biol.*, t. 96, p. 1490, 1927.

FEJGIN (Br.) et SPARROW (H.). — Sur l'affinité du virus typhique pour les différents tissus. *C. R. Soc. Biol.*, t. 91, p. 1339, 1924.

FLETCHER (W.) a. FIELD (J.-W.). — The Tsutsugamushi disease in the Federal Malay States. *Bull. Inst. Med. Res.*, F.M.S., n° 1 de 1927, 26 p., London, 1927.

FLETCHER (W.), LESSLAR (J.-E.) a. LEWTHWAITE (R.). — The Aetiology of the Tsutsugamushi disease and Tropical Typhus in the Federated Malay States. *Tr. Roy. Soc. Trop. Med. a Hyg.*, vol. 22, p. 161, 1928.

FLORENCE (L.). — An intracellular Symbiont of the Hog-Louse. *Amer. Jl. Trop. Med.*, vol. IV, pp. 397-466, 1924.

GLASER (R.-W.). — Biological studies on intracellular Bacteria N° 1. *Biol. Bull.*, vol. XXXIX, pp. 133-145, 1920.

— On the isolation, cultivation and classification on the so-called intracellular « Symbiont » or « Rickettsia » of *Periplaneta americana*. *Jl. Exp. Med.*, vol. 51, pp. 59-82, 1930.

— The intracellular « Symbionts » and the « Rickettsiae ». *Arch. Path.*, vol. 9, pp. 71-96, et 557-576, 1930.

GUIMARAIS (A.). — Flore microbienne du *Phtirius inguinalis* ; remarque sur des éléments de nature rickettsienne. *C. R. Soc. biol.*, t. 87, p. 711, 1922.

HACH (J.-W.). — Pathologie expérimentale du typhus exanthématique. La période fébrile chez le Cobaye typhique. *Zeitsch. f. Hyg.*, t. CIV, p. 319, 1925.

— La variabilité du virus typhique. *Zeitsch. f. Hyg.*, t. CIV, p. 337, 1925.

— Filtrabilité du virus typhique. *Zeitsch. f. Hyg.*, t. CVI, p. 221, 1926.



HARDY (G.-H.) a. KEMP (H.-A.). — Endemic Typhus Fever. Rat Flea as a possible Vector. *Jl. Amer. Med. Ass.*, vol. 97, pp. 775-777, 1931.

HATT (P.). — Observations sur l'évolution des Spirochètes des fièvres récurrentes chez les Ornithodores. *Arch. Inst. Past. Tunis*, t. XVIII, pp. 258-264, 1929.

HERTIG (M.) a. WOLBACH (B.-S.). — Studies on Rickettsia-like microorganisms in Insects. *Jl. Med. Res.*, vol. XLVI, pp. 329-374, Boston, 1924.

HINDLE (E.). — Notes on Rickettsia. *Parasitology*, vol. 13, p. 152, 1921.

HIS (W.). — Ueber eine neue periodische Fieberkrankung (Febris Wolhynica). *Berl. Klin. Woch.*, p. 738, 1916.

HOSCHIZAKI (S.). — Experimental Studies on the virus of Typhus Fever. *Jl. Orient. Med.*, vol. XI, p. 146, 1929.

HURST (A.-F.). — Trench Fever ; a relapsing Fever occuring among the British Troops in France and Salonica. *Lancet*, 14 oct. 1916, p. 671.

JOANNIDES (G.). — L'examen morphologique du sang dans la fièvre dengue. *Athènes Médical*, p. 101, 1929, et *Arch. Inst. Past. Athènes*, t. II, p. 295, 1930.

JOYEUX (Ch.). — Quelques données récentes sur la Leishmaniose viscérale. *Biol. Médic.*, vol. XXII, déc. 1932, pp. 489-504, 1932.

JOYEUX (Ch.) et PIERI (J.). — Le lapin réservoir de virus dans la fièvre exanthématique. *C. R. Ac. Sc.*, t. 194, p. 2342, 1932.

JUNGMANN (P.). — Zur Aetiologie des « Febris Wolhynica ». *Berl. Klin. Woch.*, Bd. 53, p. 323, 1916.

— Untersuchungen über Schlaflausrickettsien (*Rickettsia melophagi*, Nöl. *Deutsche Med. Woch.*, Bd. 49, p. 1346, 1918.

— Das Wolhynische Fieber, Berlin, *Julius Springer*, 1919.

JUNGMANN (P.) et KUCZYNSKI (H.). — Zur Klinik und Aetiologie der Febris Wolhynica (His-Wernersche Krankheit). *Deutsch. Med. Woch.*, t. 43, pp. 359-362, 1917.

KAWAMURA (R.) a. YAMAGUCHI (M.). — Ueber die Tsutsugamushi Krankheit in Formosa. *Kitasato Arch. Exper. Med.*, vol. IV, p. 169, 1921.

KEMP (H.-A.). — Endemic Typhus Fever. Rat Flea as a possible Vector. *Jl. Amer. Med. Ass.*, vol. 97, pp. 775-777, 1931.

KLIGER (I.-J.) a. ASHNER (M.). — Studies on the Etiology of Phlebotomus and Dengue Fever. II. Is a Leptospira the causative Virus ? *Ann. Trop. Med.*, vol. 22, p. 151, 1928.

KODAMA (M.), KONO (M.) et TAKAHASHI (K.). — Demonstration of *Rickettsia manchuriae* appearing in the Stomach Epithelial Cells of Rat Fleas and Rat Lice infected with so-called Manchurian Typhus. *Kitasato Arch. Exp. Med.*, vol. IX, pp. 91-96, 1932.

— On experimental observation of the so-called Manchurian Typhus and its etiological Agent (*Rickettsia manchuriae*). *Kitasato Arch. Exp. Med.*, vol. IX, pp. 97-133, 1932.

KODAMA (M.), TAKAHASHI (G.), KONO (M.) et FUTAKI (Y.). — Natural Host and Disseminators of *Rickettsia manchuriae* (A Preliminary Note). *Kitasato Arch. Exp. Med.*, vol. IX, pp. 84-89, 1932.

KUCZYNSKI (M.-H.). — *Bacterium proteus* X19 Weil-Félix, in der Kleiderlaus. *Arch. f. Prot.*, 38 Bd., pp. 376-391, 1918.

— Die Kultur der Rickettsia prowazeki, des Erregers des Fleckfiebers auf festen Nährböden. *Klin. Woch.*, p. 1412, 1922.

— Studien zur Aetiologie une Pathogenese des Fleckfiebers. *Virchow's Arch. f. Path. Anat.*, Bd 242, p. 355, 1923.

— Die Erreger des Fleck-und Felsenfiebers. Biologische und Pathologenetische Studien, p. 256, *Julius Springer*, Berlin, 1927.

KUCZYNSKI (M.) u. BRANDT (E.). — Neue ätiologie une pathogenetische Untersuchungen in der Rickettsiengruppe (Fleckfieber und Rocky Mountain Spotted Fever). *Krankheitsforschung*, Bd 3, 1926.

LÉPINE (P.). — Sur la présence dans l'encéphale des rats capturés à Athènes d'un virus revêtant les caractères expérimentaux du typhus exanthématique (virus mexicain). *C. R. Ac. Sc.*, t. 194, p. 401, 1932.

— Sur la conservation du typhus exanthématique chez le rat et la souris. *C. R. Soc. biol.*, t. CX, p. 442, 1932.

— Sur la sensibilité du Spermophile au typhus exanthématique. *C. R. Ac. Sc.*, t. 195, p. 188, 1932.

— Sur l'origine murine du typhus exanthématique endémique et bénin des pays méditerranéens. *Premier Congrès Hyg. Méditer.*, sept. 1932.

LEWIS (E.-A.). — Observations on Ticks and Tick-borne Diseases. *Bull. Dept. Agr. Kenya*, n° 2, 15 pp., 1931.

LEWTHWAITE (R.). — Japanese River Fever. *Malayan M. J.*, vol. 2, p. 145, 1927.

MAXCY (K.-F.). — An epidemiological study of Endemic Typhus (Brill's Disease) in the south-eastern United States with special reference to its Mode of transmission. *Pub. Health. Rep.*, vol. XLI, pp. 2967-2995, 1926.



MARCANDIER et BIDEAU. — Note sur l'épidémiologie de la fièvre exanthématique observée à bord des navires de guerre à Toulon. Rôle possible d'un Acarien du rat dans la transmission. *Rev. d'Hyg.*, t. LII, pp. 353-364, 1930.

MARCANDIER, BIDEAU et PIROT. — Rôle possible du rat et de ses ectoparasites dans la transmission d'une forme atténuée du typhus exanthématique observée à bord des navires de guerre à Toulon. *Ann. d'Hyg.*, p. 650, 1931.

MARCANDIER, PLAZY, LE CHUITTON et PIROT. — Transmission au singe de la fièvre exanthématique observée à bord des navires de guerre à Toulon. *Bull. Ac. Med.*, t. 105, p. 1012, 1931.

MARCANDIER et PIROT. — Présence d'un virus voisin de celui du typhus exanthématique chez les rats des navires de guerre à Toulon. *C. R. Ac. Sc.*, t. 194, p. 399, 1932.

— Transmission de l'homme au cobaye (après passage par le rat) du virus typhique toulonnais (typhus endémique bénin des navires de guerre). *C. R. Ac. Sc.*, t. 194, p. 1693, 1932.

MONTEIROS (J.-L.). — Présence des Rickettsias dans les cellules endothéliales de la membrane de Descemet, chez les animaux inoculés dans la chambre antérieure de l'œil avec le virus du Typhus exanthématique de Sao Paulo. *C. R. Soc. Biol.*, t. CVII, p. 1161, 1931.

— Sur la présence de *Rickettsia brasiliensis* n. sp. dans les cellules endothéliales de la paroi péritonéale chez des Cobayes inoculés dans le péritoine avec le virus du typhus endémique de Sao Paulo. *C. R. Soc. biol.*, t. CVIII, p. 521, 1931.

— Sur les « Rickettsioses ». *C. R. Soc. Biol.*, t. CX, p. 858, 1932.

MONTOUSSIS (K.). — Dengue Befunde von rickettsiaartigen Gebilden und Einschlüssen in mit Denguefiebervirus infizierten Stegomyien. *Arch. f. Schiffs-u. Tropen Hyg.*, t. XXXIII, p. 330, 1929.

MOOSER (H.). — Experiments relating to the pathology and the etiology of Mexican Typhus (Tabardillo). *Jl. Inf. Dis.*, vol. XLIII, pp. 241 et 261, 1928.

— Tabardillo, an Mexican variety of typhus. *Jl. Inf. Dis.*, vol. XLIV, p. 186, 1929.

— Essai sur l'Histoire naturelle du Typhus exanthématique. *Arch. Inst. Past. Tunis*, t. XXI, pp. 1-19, 1932.

MOOSER (H.) a. DUMMER (Clyde). — On the relation of the organisms in the Tunica vaginalis of animals inoculated with Mexican Typhus to *Rickettsia prowazeki* and to the causative Agent of that Disease. *Jl. Exp. Med.*, vol. 51, pp. 189-207, 1930.

MOOSER (H.), CASTANEDA (M.-R.) et ZINSSER (H.). — The transmission of the virus of Mexican Typhus from Rat to Rat by *Polyplax spinulosus*. *Jl. Amer. Med. Ass.*

— Rats as Carriers of Mexican Typhus Fever. *Jl. Amer. Med. Ass.*, vol. 97, pp. 231-232, 1931.

MOOSER (H.) et CASTANEDA (M.-R.). — The multiplication of the virus of Mexican Typhus Fever in Fleas. *Jl. Exp. Med.*, vol. LV, pp. 307-323, 1932.

MUIR (J.). — Remarks on « Pyrexia » or « Trench Fever ». *Brit. Med. Jl.*, nov. 1916, p. 641.

MUNK (Fr.) u. ROCHA LIMA (H. da). — Klinik und Aetiologie der sogennante « Wolhynischen Fiebers » (Werner-Hissche Krankheit). *Münch. med. Woch.*, 30 oct. 1917, pp. 1422-1426.

NAGAYO (M.), TAMIYA (T.), MITAMURA (T.) et HAZATO (H.). — On the Virus of Tsutsugamushi Disease (*Rickettsia orientalis* n. sp.) and its Demonstration by a new method. *Jap. Jl. Exp. Med.*, vol. III, pp. 309-318, 1930.

NAGAYO (M.) et Collab. — Ueber den Nachweis des Erregers der Tsutsugamushi-Krankheit der *Rickettsia orientalis*. *Jap. Jl. Exp. Med.*, vol. IX, pp. 87-150, 1931.

MC NEE (J.-W.), RENSHAW (A.) et BRUNT (E.-H.). — « Trench Fever » ; a relapsing Fever occuring with the British Forces in France. *Jl. Roy. Arm. Corps*, vol. XXVI, pp. 490-524, 1916.

NETTER (A.). — Epidémie d'exanthème infectieux de nature indéterminée observée sur le littoral méditerranéen. *Bull. Ac. Méd.*, t. 98, p. 181, 1927.

— Le typhus endémique bénin (Maladie de Brill). *Bull. Ac. Méd.*, t. 98, p. 71,

— Existence sur le littoral méditerranéen en dehors d'une fièvre boutonneuse transmise par le *Rhipicephalus sanguineus* commensal du chien, d'un typhus endémique bénin, maladie de Brill, transmis par un Arthropode du Rat, le *Leiognathus bacoti*. *Bull. Ac. Med.*, t. 105, p. 1017, 1931.

— Typhus exanthématique et maladies voisines. *Presse médicale*, 30 janv. 1932, p. 161.

NETTER (A.) et BLAIZOT. — Notes sur quelques cas de typhus exanthématique à Paris. Difficulté du diagnostic pour un médecin non prévenu. Efficacité des mesures préventives. Existence d'un typhus endémique. *Bull. Ac. Méd.*, t. 79, pp. 90-108, 1918.



NICHOLSON (M.). — A cytological study of the nature of Rickettsia in Rocky Mountain Spotted Fever. *Jl. Exp. Med.*, vol. 43, p. 515, 1926.

NICOLLE (Ch.). — Origine commune des typhus et des autres fièvres exanthématiques. Leur individualité présente. *Arch. Inst. Past. Tunis*, vol. 21, pp. 32-42, 1932.

— Sur l'intérêt d'une étude expérimentale du virus exanthématique des vallées andines. *Arch. Inst. Past. Tunis*, vol. XXI, p. 324, 1932.

NICOLLE (Ch.), BLAIZOT (L.) et CONSEIL (E.). — Etiologie de la fièvre récurrente. Son mode de transmission par les Poux. *Ann. Inst. Past.*, t. 27, pp. 204-225, 1913.

NICOLLE (Ch.) et LEBAILLY (Ch.). — Contribution à la connaissance de l'évolution des Spirochètes de la fièvre récurrente chez le Pou. (Etude des coupes en série). *C. R. Ac. Sc.*, t. 159, p. 934, 1919.

NICOLLE (Ch.) et ANDERSON (Ch.). — Sur la notion d'espèce chez les Spirochètes récurrents du Maroc et le rôle du Porc-épic dans leur conservation et leur transmission naturelles. *Arch. Inst. Past. Tunis*, t. XVIII, p. 347, 1929.

NICOLLE (Ch.), ANDERSON (Ch.) et COLAS-BELCOUR (J.). — Sensibilité du Porc-Epic au Spirochète des terriers des petits rongeurs sauvages du Maroc. *Sp. hispanicum*, var. *marocanum*. *Arch. Inst. Past. Tunis*, t. XVIII, pp. 343-346, 1929.

— Recherches expérimentales poursuivies à l'Institut Pasteur de Tunis sur les conditions de la transmission des Spirochètes récurrents par les Ornithodores (Mémoire d'ensemble). *Arch. Inst. Past. Tunis*, t. XIX, pp. 133-227, 1930.

NICOLLE (Ch.), ANDERSON (Ch.) et LAIGRET (J.). — Etude de 3 cas de fièvre récurrente hispano-africaine observés en Tunisie et plus spécialement de leurs virus. *Arch. Inst. Past. Tunis*, t. XXI, p. 43, 1932.

NIGG (C.) a. LANDSTEINER (K.). — Studies on cultivation of Typhus Fever Rickettsia in presence of Live Tissue. *Jl. of Exp. Med.*, vol. 55, p. 563, 1932.

NÖLLER (W.). — Beitrag zur Flecktyphusübertragung durch Läuse. *Berl. Klin. Woch.*, juil. 1916, p.778.

PARKER (R.-R.) et SPENCER (R.-R.). — Rocky Mountain Spotted Fever : Study of the Relationship between the Presence of Rickettsia-Like Organismus in Tick smears and the Infectiveness of the same Ticks. *Pub. Health. Rep.*, vol. XLI, pp. 461-469, 1926.

PIZA (J.) et Collab. — Le Typhus exanthématique à Sao Paulo. *C. R. Soc. Biol.*, t. CVI, p. 1020, 1931.

RICKETTS (H.-T.). — Observations on the Virus and Means of Transmission of Rocky Mountain Spotted Fever. *Jl. Inf. Dis.*, vol. 4, p. 141, 1907.

— A Microorganism which apparently has a specific Relationship to Rocky Mountain Spotted Fever. *Jl. Am. Med. Ass.*, vol. 52, p. 379, 1909.

RICKETTS (H.-T.) et WILDER (R.-M.). — The transmission of the Typhus Fever of Mexico (Tabardillo) by Means of the Louse (*Pediculus vestimenti*). *Jl. Am. Med. Ass.*, vol. 54, p. 1304, 1910.

ROCHA-LIMA (H. da). — Zur Aetiologie des Fleckfiebers. *Berl. Klin. Woch.*, pp. 567-569, 1916.

— Beobachtungen bei Flecktyphusläusen. *Arch. f. Schiffs-u. Tropen-Hyg.*, t. XX, pp. 17-21, 1916.

— Untersuchungen über Fleckfieber. *Münch. Med. Woch.*, t. LXIII, p. 1381, 1916.

— Die Uebertragung des Rückfallfiebers und des Fleckfiebers Bemerkungen zur Rickettsia Frage. *Deutsch. Med. Woch.*, pp. 732-734, 1919.

ROCHAIX (A.), SEDALLIAN (P.) et COUTURE (E.). — Les Rats de Lyon sont-ils porteurs de virus exanthématique ? *C. R. 1er Congrès Hyg. Médit.*, Marseille, sept. 1932.

— Les typhus et le rôle du Rat dans leur origine. *Jl. Méd. de Lyon*, 5 déc. 1932, pp. 725-736.

ROSENBERGER (G.). — Studien über die in-und extracellulär liegenden Rickettsien. *Arch. f. Schiffs-u. Trop. Hyg.*, t. 26, p. 112, 1922.

ROSENHOLZ (H.-P.). — Die Rolle der Wanzen in der Epidemiologie des Ruckfallfiebers. *Centralbl. f. Bakt.*, I., t. CII, pp. 179-212, 1927.

ROSENHOLZ (H.-P.) u. GILBERT (M.-J.). — Weitere Untersuchungen über die Rolle der Wanzen in der Epidemiologie des Ruckfallfiebers. *Centralbl. f. Bakt.*, I, Bd. CIII, p. 348, 1927.

RUMREICH (A.), DYER (R.-E.) et BADGER (L.-F.). — The typhus Rocky Mountain spotted fever group. An epidemiological and clinical Study in the Eastern an Southeastern States. *Publ. Hlth. Rep.*, vol. XLVI, pp. 470-480, 1931.

SELLARDS (A.-W.). — The cultivation of a Rickettsia-Like Microorganism from Tsutsugamushi Disease. *Am. Jl. Trop Med.*, vol. 3, p. 529, 1923.

SELLARDS (A.-W.) et SILER (J.-F.). — The occurence of Rickettsia in Mosquitoes (*Aedes aegypti*) infected with the Virus of Dengue Fever. *Am. Jl. Trop. Med.*, vol. VIII, p. 299, 1928.



SHELMIRE (B.) et DOVE (W.-E.). — The tropical Rat Mite, *Liponyssus bacoti* Hirst, 1914, the cause of a Skin eruption of Man, and a possible Vector of Endemic Typhus Fever. *Jl. Amer. Med. Ass.*, vol. 96, pp. 579-584, 1931.

SIKORA (H.). — Beiträge zur Kenntnis der Rickettsien. *Arch. f. Schiffs-u. Tropen-Hyg.*, t. 22, pp. 442-446, 1918.

— Beobachtungen an Rickettsien besonders zur Unterscheidung der *R. prowazeki* und *R. pediculi*. *Arch. f. Schiffs. u. Trop. Hyg.*, t. XXIV, pp. 347-353, 1920.

— Ueber die Züchtung der *Rickettsia pediculi*. *Arch. f. Schiffs-u. Trop. Hyg.*, t. 25, p. 123, 1921.

— Neue Rickettsia bei Vogelläusen. *Arch. f. Schiffs-u. Trop. Hyg.*, t. 26, p. 271, 1922.

— Rickettsien fund bei einer staupeartigen Krankheit der Katze. *Berl. tierärz. Woch.*, t. 40, p. 531, 1924.

SOUSA (J. de). — Présence de *Rickettsia prowazeki* dans le sang des convalescents de Typhus exanthématique. *C. R. Soc. Biol.*, t. 87, p. 710, 1922.

SPENCER (R. R.) et PARKER (R. R.). — Rocky Mountain Spotted Fever : Infectivity of Fasting and Recently Fed Ticks. *Pub.Health. Rep.*, vol. 38, p. 333, 1923. — Viability of the Virus in Animal Tissues. *Ibid.*, vol. 39, p. 55, 1924. — Experimental Studies on Tick Virus. *Ibid.*, vol. 39, p. 3027, 1924. — Non Filterability of Tick and Blood Virus. *Ibid.*, vol. 39, p. 3251, 1924.

— Studies on Rocky Mountain Spotted Fever. *Bull. Hyg. Lab.*, 116 pp. *Washington D. C. Publ. Hlth. Surv.*, 1930.

UGO (R.). et BONCINELLI (U.). — Isolement d'un germe semblable aux Rickettsia du sang d'une malade atteinte de typhus bénin estival. *Boll. Soc. Intern. Microb.*, vol. IV, pp. 261-264, 1932.

WASSILIEFF (A.). — Les Rongeurs et Puces de la Tunisie et leur rôle dans la propagation de la peste. *Arch. Inst. Past. Tunis*, t. 20, p. 59, 1930-1931.

WEIGL (R.). — Etudes sur *Rickettsia prowazeki*. *Przeglad. Epidemjologiczny*, t. I, p. 15, 1920.

— Suite des recherches sur Rickettsia (*Rickettsia Rocha-Limae* n. sp.). *Rev. épidémiol. Varsovie*, t. I, 1921.

WENYON (C.-M.). — The transmission of Leishmania Infections. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.*, vol. XXV, pp. 319-348, 1931.

WOODCOCK (H.-M.). — « Rickettsia » Bodies as a Result of Cell Digestion or Lysis. *Jl. Roy. Arm. Corp.*, vol. XL, pp. 81 et 241, 1923.

— On the Modes of Production of « Rickettsia » Bodies in the Louse. *Jl. Roy. Arm. C.*, vol. XLII, pp. 121-131 et 175-186, 1924.

WOLBACH (T.-B.). — The Etiology of Rocky Mountain Spotted Fever. *2nd Bienn. Rep. Montana State Bd. Entom.*, décembre 1916, pp. 35-44.

— Rocky Mountain Spotted Fever, Pathology and Etiology, Progress. *3th. Bienn. Rep. Montana State Bd. Entom.*, pp. 55-60, décembre 1918.

— Studies on Rocky Mountain Spotted Fever. *Jl. of Med. Res., Boston*, vol. 41, 1919.

WOLBACH (S.-B.) et TODD (J.-L.). — Note sur l'étiologie et l'anatomie pathologique du typhus exanthématique au Mexique. *Ann. Inst. Past.*, t. 34, pp. 153-158, 1920.

WOLBACH (S.-B.), TODD (J.-L.) et PALFREY (Fr.-W.). — The Etiology and Pathology of Typhus. *Harw. Univ. Press Cambridge, Mas.*, 222 pp., 34 pl., 1922.

WOLBACH (S.-B.), PINKERTON (H.) a. SCHLESINGER (M.-J.). — The cultivation of the Organisms of Rocky Mountain Spotted Fever and Typhus in Tissue Cultures. *5th Bienn. Rep. Montana State Bd. Entom.*, pp. 29-32, janvier 1923.

WOLLMAN (E.). — Le rôle des Mouches dans le transport des germes pathogènes étudié par la méthode des élevages aseptiques. *Ann. Inst. Past.*, t. 35, p. 431, 1921.

WOLLMAN (E.), ANDERSON (Ch.) et COLAS-BELCOUR (J.). — Recherches sur la conservation des virus hémophiles chez les Insectes. *Arch. Inst. Past. Tunis*, t. 17, p. 229, 1928.

ZINSSER (H.) et BATCHELDER (A.-P.). — Studies on Mexican Typhus Fever. *Jl. Exp. Med.*, vol. 51, p. 847, 1930.

ZINSSLER (H.) a. CASTANEDA (R.). — Studies on Typhus fever. Ticks as a possible Vector of the Disease from Animal to Man. *Jl. Exp. Med.*, vol. 54, pp. 11-21, 1931.

# TABLE ALPHABÉTIQUE DES MATIÈRES

C



D







E



F



G



H



I



L

M



N



O



P



R







S



T



U



V



X



Z

# TABLE ALPHABETIQUE DES NOMS D'AUTEURS

D



E



F



G



H



I



J



K







L



M



N



O



P

# TABLE ANALYTIQUE DES MATIERES

Troisième Partie

## LES MALADIES A ULTRAVIRUS



Quatrième Partie

## L'INFECTION BACTERIENNE







Cinquième Partie

## L'IMMUNITE ANTIBACTERIENNE NATURELLE ET ACQUISE

Sixième Partie

## LA SYMBIOSE CHEZ LES PUCERONS



Septième Partie

## CONSIDERATIONS ECONOMIQUES SUR LE ROLE DE LA PATHOLOGIE INFECTIEUSE DES INSECTES







IMPRIMERIE G. PATISSIER, TRÉVOUX (AIN)